~~1930~~
Date - 1929

DE IEPENZIEKTE

RAPPORT OVER HET ONDERZOEK
VERRICHT OP VERZOEK VAN DE
NEDERLANDSCHE HEIDEMAATSCHAPPIJ

DOOR

JOHANNA WESTERDIJK EN CHRISTINE BUISMAN

IMPERIAL BUREAU
9 SEPT. 1929
OF MYCOLOGY

UITGAVE NEDERLANDSCHE HEIDEMAATSCHAPPIJ TE ARNHEM

DE IEPENZIEKTE

RAPPORT OVER HET ONDERZOEK
VERRICHT OP VERZOEK VAN DE
NEDERLANDSCHE HEIDEMAATSCHAPPIJ

DOOR

JOHANNA WESTERDIJK EN CHRISTINE BUISMAN

UITGAVE NEDERLANDSCHE HEIDEMAATSCHAPPIJ TE ARNHEM

VOORWOORD

Einde 1926 verzocht het Bestuur van de Nederlandsche Heidemaatschappij mij een hernieuwd onderzoek naar de oorzaak van de Iepenziekte in te stellen.

Dit onderzoek was door dit Bestuur mogelijk gemaakt, door in overleg met de Commissie van Uitvoering van het Prijsvrageninstituut van den *„Oranjebond van Orde"* uit het daarvoor gevormde fonds de noodige middelen beschikbaar te stellen.

Hoewel volgens de grondslagen van het Instituut — zoo de stand van de financiën het veroorlooft — ééns in de 5 jaar een som van ten hoogste f 2000.— beschikbaar wordt gesteld voor het uitschrijven van een prijsvraag of voor anderen verdienstelijken arbeid over onderwerpen van staathuishoudkundigen, landhuishoudkundigen, landbouwkundigen en algemeen wetenschappelijken aard, is in verband met de belangrijkheid van het Iepenvraagstuk in het verloopen 5-jarig tijdperk 1924—1928 reeds ongeveer f 5000.— hiervoor uitgegeven, terwijl in het inmiddels aangevangen tijdperk 1929—1933 reeds een bedrag van f 1000.— voor hetzelfde doel is uitgetrokken.

Op deze plaats past het een eeresaluut te brengen aan de nagedachtenis van Jhr. J. Hora Siccama van de Harkstede door wiens altruïstischen arbeid dit alles mogelijk is geworden. Hij toch was de stichter en de stuwkracht van den **Oranjebond van Orde** en het door dien Bond in het leven geroepen Prijsvrageninstituut. Op zijn initiatief werden in 1923 de eigendommen van den Oranjebond van Orde geschonken aan de Nederlandsche Heidemaatschappij, welke voor het beheer daarvan een afzonderlijk Oranjebond van Ordefonds schiep.

De Commissie van Uitvoering van het Instituut bestaat thans uit de heeren I. G. J. Kakebeeke, Inspecteur van den Landbouw, Voorzitter, Prof. Dr. H. W. C. Bordewijk, Hoogleeraar te Groningen en Ir. V. R. IJ. Croesen, Voorzitter van het Nederl. Landbouw Comité, Secrearis.

Het Bestuur van de Stichting „Willie Commelin Scholten" stond toe, dat het werk op het laboratorium en op het terrein van die Stichting werd uitgevoerd.

De uitkomsten van dit onderzoek zijn in deze verhandeling neergelegd.

Gaarne grijp ik de gelegenheid aan enkele personen te danken voor de krachtdadige hulp, die zij ons verleenden: Prof. A. J. Kluyver te Delft voor de hulp bij het bacteriologisch onderzoek, den Heer H. van Oordt, Hoofdingenieur Rijkswaterstaat, Middelburg, den Heer S. G. A. Doorenbos, Dir. Gem. Plantsoenen te Den Haag, den Heer G. J. Boeschoten, Opzichter Gem. Plantsoenen te Leeuwarden, den Heer J. Goossen, hortulanus te Baarn en Dr. J. Richter te Berlin-Dahlem voor zijn hulp bij den duitschen tekst.

JOHANNA WESTERDIJK.

INHOUD

DEEL I

blz.

VROEGERE ONDERZOEKINGEN EN ALGEMEENE BESCHOUWINGEN DOOR JOHANNA WESTERDIJK 1

DEEL II

ONDERZOEK NAAR DE OORZAAK VAN DE IEPENZIEKTE DOOR CHRISTINE BUISMAN 13

INLEIDING 15

Hoofdstuk I. UITERLIJK VAN HET HOUT VAN EEN AAN IEPENZIEKTE LIJDENDEN IEP 16

Hoofdstuk II. KWEEKPROEVEN 18

Hoofdstuk III. INFECTIEPROEVEN 20

§ 1. Het voor de infectieproeven gebruikte iepenmateriaal 20
§ 2. Het voor de infectieproeven gebruikte materiaal van Graphium ulmi 21
§ 3. Tijd, plaats en wijze van infectie 22
§ 4 Resultaten 22
a. Infecties zonder voorafgaande verwonding 22
b. Infecties na verwonding op bovengrondsche deelen 22
c. Wortelinfecties 26
d. Infectieproeven met 2 organismen en met aftreksel uit zieke takken . . . 27
e. Contrôleproeven 28
§ 5. Infectieproeven op andere boomen 28

Hoofdstuk IV. BESPREKING INFECTIEPROEVEN 30

Hoofdstuk V. NATUURLIJKE INFECTIE 32

Hoofdstuk VI. SYMPTOMEN EN VOORKOMEN VAN DE IEPENZIEKTE 36

§ 1. Uitwendige symptomen 36
§ 2. Vatbaarheid voor de ziekte van boomen van verschillende standplaats, leeftijd en soort 37
§ 3. Inwendige symptomen en verloop van de ziekte 39
§ 4. Duur van het ziekteproces. 40

DEEL III

ZIEKTEN VAN DEN IEP, DIE IN EEN OF ANDER OPZICHT GELIJKEN OP DE ECHTE IEPENZIEKTE DOOR CHRISTINE BUISMAN 41

Hoofdstuk I. VERTICILLIUM-AANTASTING VAN IEPEN . 43

Hoofdstuk II. EEN BACTERIE-AANTASTING VAN IEPEN-HOUTVATEN 46

§ 1. Uiterlijk van de houtverkleuring 46
§ 2. Isolatie en beschrijving van de bacterie. 49
§ 3. Infectieproeven 51
§ 4. Bespreking infectieproeven. 54
§ 5. Infectieproeven op andere boomen 54

Hoofdstuk III. TAKSTERVEN VEROORZAAKT DOOR DIAPORTHE SPEC. (PHOMOPSIS) 56

§ 1. Ziektesymptomen 56
§ 2. Kweekproeven 57
§ 3. Infectieproeven 60
§ 4. Myxosporium ulmi (Oud.) Sacc. in verband met dit taksterven 60
§ 5. Exosporium ulmi Eriksson als oorzaak van taksterven 62
§ 6. Kanker van Ulmus americana, veroorzaakt door Sphaeropsis ulmicola E. et E. 62

Hoofdstuk IV. STERVEN VAN IEPEN ALS GEVOLG VAN AANTASTING DOOR NECTRIA CINNABARINA . . 63

Hoofdstuk V. PYTHIUM INTERMEDIUM ALS PARASIET VAN IEPEN 64

DEEL IV

ZUSAMMENFASSUNG 66

LITERATUURLIJST 77

DEEL I

Vroegere onderzoekingen en algemeene beschouwingen

door JOHANNA WESTERDIJK

Aan het onderzoek over de oorzaak van de iepenziekte laat ik voorafgaan een zeer korte bespreking van het werk, dat tot nog toe naar aanleiding van deze kwaal verricht is.

Ik bespreek hier de *wetenschappelijke* onderzoekingen; onder deze hebben sommige onze kennis vooruit gebracht, andere hebben die bepaald in de verkeerde richting geleid. De opmerkingen in de tuinbouwvakpers hebben in dit geval niet veel tot ons begrip bijgedragen, ook al, omdat er nog altijd gekibbeld wordt over de oorzaak van de ziekte.

Juist de geheel foutieve wetenschappelijke onderzoekingen zijn in de tuinbouwvakpers ver doorgestraald en zij zijn bepaald gevaarlijk geweest voor de boomkweekerswereld van West-Europa. Ik bedoel die onderzoekingen, waarbij het werd voorgesteld, alsof de bodem van West-Europa vergiftigd is door den parasiet van de iepenziekte. In dezen tijd van plantenpuarantaines is er maar een kleinigheid noodig om andere landen hun grenzen voor al onze boomen te doen sluiten. Roekelooze gevolgtrekkingen van wetenschappelijke zijde zijn op dit gebied sterk te veroordeelen.

In de literatuurbespreking ben ik alleen op de m.i. essentieele punten ingegaan. Hoe „het publiek" gereageerd heeft op de iepenziekte, demonstreert duidelijk, dat „de iep" een teer punt is in de Hollandsche volksziel. Hoewel ik enkele opmerkingen zal maken over dit reageeren, ga ik niet in op de tallooze populaire stukjes en leekeopmerkingen, die een juist begrip over de ziekte letterlijk „geteisterd" hebben. Ik maak mij trouwens weinig illusie, dat het na dit rapport met dit gepraat een einde zal hebben. De groote pers neemt nauwelijks meer leekeopmerkingen over menschelijke ziekten op: op het gebied van plantenziekten slikt zij nog elk onverteerbaar brok.

Aan het einde van dit literatuuroverzicht geef ik een korte samenvatting van wat het hernieuwd onderzoek in het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten" heeft gebracht. Ten slotte geef ik eenige algemeene beschouwingen over „pogingen" om de ziekte te keeren.

Literatuuroverzicht

In Mededeelingen van den Phytopathologischen Dienst No. 18 (1921) bespreekt D. Spierenburg voor het eerst het voorkomen van de iepenziekte, die sinds 1919 in ons land is waargenomen. Zij beschrijft bruine ringen en strepen in het hout, en isoleert een aantal fungi, waaronder een Graphium en Cephalosporium; zij besluit echter niet tot eenige ziekteoorzaak, en weet niet, of de ziekte van anorganischen of infectieuzen aard is. Typisch is ech-

ter, dat zij als „opinie uit de praktijk" aangeeft, dat men meent met een infectieziekte te doen te hebben, die in den top en het uiteinde van de hoogere takken begint.

In Mededeeling No. 24 van den Phytopathologischen Dienst 1922 vervolgt zij haar studies over „een onbekende ziekte in de iepen". Zij beschrijft verschillende ziektebeelden, geeft lijsten van zwammen en bacteriën, die zij uit het zieke hout en den bast isoleert, en komt tot de volgende resultaten: zij kan geen zwam aantoonen in het verkleurde hout, kan meestal de zwammen Cephalosporium-Graphium uit het hout kweeken, soms buitendien bacteriën. Na infectie met deze organismen ziet zij slechts donkere stippen in het hout optreden en wenscht nog geen uitspraak over de oorzaak te doen. Verder wijst zij reeds op een acuut en chronisch stadium van de ziekte en op het voorkomen op alle gronden.

Geeft deze verhandeling, wat het beeld van de iepenziekte aangaat, een duidelijk inzicht, wat het cultureele deel betreft, is dit onderzoek weinig verzorgd: bij zuivere isolatie komt n.l. altijd Graphium alleen uit het hout. Ook is zonder moeite uit enkelspoorcultures aan te toonen, dat de Cephalosporiumkopjes en Graphiumcoremien tot één zelfde soort behooren. Daarbij is het altijd terugisoleeren van bacteriën uit met zwammen geënte boompjes, een bewijs van weinig zuiver werk.

Enkele weken na deze mededeeling verscheen de dissertatie van M. B. Schwarz: Das Zweigsterben der Ulmen, Trauerweiden und Pfirsichbäume, bewerkt in het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten".

Het essentieele van dit werk is, dat het mycologische werk wel zeer verzorgd is; bij zuivere cultuur werd alleen Graphium en geen ander organisme uit het zieke hout geïsoleerd, terwijl werd bewezen, dat de kopjesvorm (Cephalosporium) een der vormen van Graphium is; deze fungus werd nu gediagnostiseerd als Graphium ulmi nov. spec.

Schwarz vindt hier en daar hyphen in de houtvaten. Verder nam zij infectieproeven (die hoofdzakelijk in het najaar werden genomen), waarbij zij bruine houtverkleuringen tot 30 c.M. vertikaal in een tak kreeg. Acute afstervingsverschijnselen kreeg zij niet, wat nu te begrijpen is, door het verkeerde jaargetijde, waarin geïnfecteerd werd. Schwarz meende hieruit toch te moeten afleiden (en ik meende dit met haar), dat Graphium ulmi de oorzaak van de iepenziekte is, waarover ze steeds op zeer heftige wijze in allerlei krantengeschrijf is aangevallen. De schrijvers van deze opstellen beseffen waarschijnlijk niet, in hoeveel gevallen van welbekende ziekten men *nooit* infectieproeven heeft genomen. Haar opvatting, dat de infectie door de bladen zou gaan, heeft zich niet bewaarheid. In elk geval moest het acute infectiebeeld nog in het leven geroepen worden. — [1])

---

[1]) In de „Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft 1922" geeft Valckenier Suringar een kleine bespreking van de resultaten van de onderzoekingen van Spierenburg en Schwarz.

Hij noemt daarin Graphium ulmi nov. spec. een „nomen dubium". In het algemeen kan men zeggen, dat dendrologen zich nooit met het beschrijven van fungi bezig houden en er

Voordat dit echter gebeurde, kwam de periode in de literatuur, die wij als „bacteriën-periode" kunnen bestempelen!

Brussoff te Aken publiceerde n.l. in 1924 een artikel, waarin hij zeer duidelijk de anatomische kenmerken van de iepenziekte beschrijft, maar waarin hij tot de conclusie komt, dat een bacterie „Micrococcus ulmi" nov. sp. de oorzaak van de ziekte is. Hij meent dit op grond van cultures en van de ronde bolletjes, die hij in de vaten waarneemt.

Zijn beschrijving van het zieke hout is zoo typisch die van Graphiumziek hout, dat men er niet aan behoeft te twijfelen, of hij het in handen gehad heeft. Met de „Hefezellen" in zijn cultures (mogelijk de kopjesvorm van Graphium) houdt hij zich echter niet op.

Zijn infectieproeven, waaraan hij positieve resultaten toekent, bewijzen niets: hij heeft n.l. zware boomen in den stam met bacteriën geënt en toen gezien, dat in den zomer enkele toppen gingen insterven. Wanneer een dusdanig behandelde boom niet na het rooien in plakken gezaagd wordt, waarbij het verband tusschen de infectieplek en de zieke toppen wordt aangetoond, zijn de proeven zonder eenige waarde of overtuiging. Dat dit gebeurd zou zijn, blijkt nu uit Brussoffs publicatie niet. Buitendien is zijn keuring van de te infecteeren boomen zeer primitief, omdat hij alleen ziet, of het boorgat bruin hout heeft.

Over het cultureele gedeelte — de isolatie-proeven —, waarin hij Micrococcus ulmi beschrijft, behoef ik verder wel niets te zeggen, daar Stapp (zie beneden) bewezen heeft, dat er geen Micrococcus ulmi bestaat.

In 1926 publiceert Brusoff eenige zeer alarmeerende artikelen, waarin hij beweert, dat de olmenbacterie niet tot de iepen beperkt blijft, maar allerlei soorten van boomen aanvalt. Ahornsoorten, linden, beuken, populieren, alle vertoonen naar zijn meening onrustbarende afstervingsverschijnselen, die het gevolg zijn van een bacteriënaantasting in de wortels. Het is echter opvallend, dat zijn beschrijvingen van de houtaantastingen met bloote oog gezien, weinig aan de Graphiumstreepen herinneren. Dikwijls praat hij van vlekken en punten en van roode verkleuringen. Zeer te betreuren is het ,dat al deze mededeelingen, die op uiterst twijfelachtige proeven rusten, overal haar weg in de tuinbouwlitteratuur hebben gevonden. Ook door een bericht in een algemeen gelezen blad als de Umschau werd een ieder verschrikt, dat de wortels van bijna al onze boomsoorten besmet werden met een bacterie (Micrococcus ulmi) waarmede de grond letterlijk doordrenkt was. Ook in de Mitt. der dendrol. Ges. geeft hij een afbeelding van een zieken lindewortel, die zeer sterk aan een aantasting door Verticillium herinnert.

---

niets van af weten. Deze nietszeggende critiek op deze naar moderne methoden beschreven schimmel, behoef ik hier wel niet te weerleggen,

Later heeft dezelfde auteur weer eens een soort critiek op de iepenziekte-onderzoekingen ten beste gegeven. (Jaarboek van de Nederlandsche Dendrologische Vereeniging, 1927) waarin de Graphium ulmi het weer ontgelden moet. Zij wordt nu zelfs „Graphium doctorale" genoemd.

Dergelijke aantijgingen zijn van zoo minderwaardig allooi, dat men eigenlijk niet begrijpt, dat de Dendrologische Vereeniging ze laat drukken. Met wetenschappelijke critiek heeft zoo iets niets te maken.

Toen de alarmklok zoo dringend geluid werd, besloot de Biologische Reichsanstalt te Berlijn-Dahlem een onderzoek naar de iepenziekte te laten instellen èn door haar bacterioloog Dr. Stapp en door haar mycoloog Dr. Wollenweber.

Voordat wij de uitkomsten van deze onderzoekers bespreken, moeten wij nog het werk van Gräfin Von Linden en Lydia Zenneck te Bonn noemen, dat in 1927 verscheen. Zij isoleeren uit alle zieke takken Graphium ulmi Schwarz en doen proeven met het inzetten van takken in een aftreksel uit cultures van deze schimmel, waarbij zij verwelking waarneemt. Op deze proeven is S. Broekhuizen teruggekomen in een verhandeling over de oorzaken van thyllenvorming bij den iep. [1])

In hetzelfde jaar geeft Brussoff een kritiek op de onderzoekingen van Linden en Zenneck, terwijl deze laatsten daar weer op antwoorden. Voor den loop van het onderzoek over de iepenziekte zijn deze artikelen van weinig belang en zij kunnen daarom buiten bespreking blijven.

In Maart 1927 begonnen wij een hernieuwd onderzoek over de iepenziekte. In hetzelfde jaar vingen Wollenweber en Stapp aan de Biologische Reichsanstalt hun onderzoek aan. In October 1927 gaf Wollenweber een kort overzicht over zijn proeven in het Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes. Wollenweber bevestigt de bewering van Schwarz, dat er schimmelhyphen in het hout te vinden zijn, en dat deze tot de schimmel Graphium ulmi Schwarz behooren. Behalve dat hij de schimmel na infectie in het hout ziet dringen, ziet hij 5 weken na de infectie van 1- 3-jarige zaailingen, van U. montana, verwelking en verdorring optreden; de verbreiding van dezen fungus vond naar boven en naar beneden plaats en geeft het typische beeld in het hout. De infecties vonden plaats in Juli.

Hiermede is het exacte bewijs geleverd, dat behalve de verkleuring van het hout, ook het verdorren door Graphium ulmi wordt teweeggebracht.

Een uitvoeriger verhandeling van Wollenweber verscheen in 1928. Met Stapp samen geeft hij zijn conclusies. Wollenweber beschrijft weer talrijke gelukte zomerinfecties met Graphium ulmi hoofdzakelijk op 1 tot 3-jarige Ulmus montana-zaailingen. Deze onderzoeker maakt altijd gebruik van een T-snede, waarin hij de schimmel uit een reincultuur inent. Dit is een andere methode dan waarmee Buisman (zie Deel II) succes had. De infecties hebben zich in den loop van den zomer van de basis van de boompjes tot 1 Meter hoog uitgebreid. Deze proeven zijn overtuigend.

Proeven op grootere boomen, die in den herfst werden aangezet, zeggen minder, omdat de boom niet geveld en in stukken gezaagd is, maar uitsluitend gekeurd op uitwendige verschijnselen. Het is op deze manier niet mogelijk volkomen zeker te zijn van het slagen van infecties. Men kan op dit punt bij grootere boomen in zijn oordeel niet voorzichtig genoeg zijn.

Wollenweber is het geheel met de diagnose van Schwarz eens en beschouwt eveneens de iepengraphium als vóór 1922 onbeschreven. Verder is nog zeer belangrijk in het onderzoek van Wollenweber, dat hij Graphiumsporen vindt in de boorgangen van kevers. —

[1]) S. Broekhuizen. Wondreacties van hout. Leiden 1929.

Stapp zet in dezelfde publicatie uiteen, hoe in de authentieke cultures van Brussoff nooit een Micrococcus te vinden is en hoe hij met geen enkele isolatie van Brussoff ook maar één infectie heeft verkregen. Men kan veilig zeggen, dat de „Micrococcus ulmi" van de baan is. Brussoffs verdediging tegen dit onderzoek zegt niets. Stapp kan buitendien nooit uit „iepenziekte" iepenbacteriën isoleeren.

In de laatste maanden zijn nog eenige mededeelingen over de iepenziekte gekomen en wel van Malcolm Wilson en Dr. Mary Wilson. Beide kweeken Graphium ulmi uit de iepenzieke takken en meenen, dat ook in Engeland de iepenziekte door Graphium ulmi wordt veroorzaakt.

Verder hebben zij sporen van deze zwam op doode stompen gevonden.

In 1927 verscheen eveneens een verhandeling van den bekenden mycoloog Ph. Biourge te Leuven: „La maladie des Ormes". Eerst constateert hij een geval van Nectria, die hij toen voor Nectria cinnabarina hield op een tak van een paar groote, stervende iepen. Eenigen tijd later ziet hij het stuk van Eriksson (cf. No. 13), die Nectria vond op takjes, welke het vorige jaar door Exosporium ulmi waren gedood. Dan krijgt hij de eerste publicaties van Spierenburg onder oogen, die hij uitvoerig bespreekt.

Biourge kweekt dan uit zieke takken Nectria met haar Tuberculariaconidiën. Hij meent te zien, dat in cultuur deze Nectria overgaat in Graphium. Dus besluit hij, dat Graphium thuis hoort in den cyclus van Nectria. Hij gaat nog veel verder en wil niet alleen Exosporium, maar allerlei andere sporenvormen, die men op iepetakken vindt, in dezen cyclus betrekken, b.v. Phyllostica ulmi Westendorp, Libertella ulmi-suberosae Oudemans, Gloeosporium inconspicuum Cavara. Het is ons niet duidelijk of deze beschouwingen alleen op ruwe cultures gegrond zijn. Hij heeft in elk geval nooit één van de vele sporenvormen, die hij vond, apart doorgekweekt. Een dergelijke manier van werken is uit den tijd en men kan hieruit geen enkele zekere conclusie trekken. Het is daarom overbodig den samenhang van al de vormen, die hij noemt, in te gaan, temeer, daar zijn gevolgtrekkingen uiterst onduidelijk gesteld zijn.

Evenzoo zijn zijn beschouwingen met welke Nectria hij nu eigenlijk te doen heeft, zeer verward. Hij meent, dat ze behoort bij Tubercularia nigricans (= Tremella nigricans Bulliard) en beschouwt dus als oorzaak van de iepenziekte Nectria nigricans (Bull.) Biourge. Het is ons niet mogelijk in deze verwarde beschouwingen eenigen draad te ontdekken. Hij haalt zijn gegevens hoofdzakelijk uit den voortijd van de reincultures. Zelf heeft hij niet geëxperimenteerd.

In 1928 publiceerden Dr. Buisman en ik een voorloopig verslagje over de nieuwe iepenziekteonderzoekingen (1927, 1928), waaruit bleek, dat hier talrijke kunstmatige infecties met Graphium ulmi de iepenziekte bij nauwkeurig gecontroleerde boomen van 3—6 jaar, de ziekte te voorschijn konden roepen.

Buitendien vond Dr. Buisman, dat in iepetakken, die geen uitwendige ziekteverschijnselen vertoonden, zwarte strepen kunnen voorkomen. Deze bestaan uit vaten, die met bacteriën zijn gevuld. Het is een vaataantasting, die niet

van diepgaanden invloed is, maar die gemakkelijk, bij het doorsnijden van takken, met Graphiumvaten verward kan worden. Deze bacteriën hebben niets met „Micrococcus ulmi" te maken: het zijn staafjesbacteriën. Ziekteverschijnselen roepen zij niet in het leven. Verder onderzoekt Dr. Buisman eenige andere ziekten van iepen, die met Graphium verward zouden kunnen worden.

In het hier ingeleverde rapport worden deze onderzoekingen uitvoerig uiteengezet.

Conclusies

De conclusies, die men uit dit rapport kan maken, zou ik als volgt willen samenstellen:

Graphium ulmi Schwarz is de oorzaak van de iepenziekte, want het is gelukt door inenting met deze schimmels alle typische verschijnselen van de iepenziekte voort te brengen. Graphium ulmi is een typische vaatparasiet, die zich hoofdzakelijk in de lengterichting, zeer luttel in horizontale richting, in takken en stam verbreidt. De natuurlijke infectie geschiedt door de takken, verloopt door den stam en kan ten slotte de wortels aantasten. Hoewel het kunstmatig gelukt wortels te infecteeren, gebeurt dit in de natuur waarschijnlijk niet, zeker niet als regel. Van de „vergiftiging" van den grond met dezen parasiet is geen sprake. De infectie gebeurt niet door de natuurlijke openingen van de plant, maar naar men moet aannemen door kleine takwondjes. Kunstmatige infecties op onverwonde takken, bladen of bloemen gelukken niet, evenmin infecties op snoeiwonden. De parasiet kan in een volgend jaar na de infectie in jongere takken uitgroeien. In het eene jaar sterven meer jonge takken door infectie van buitenaf, dan in het andere. Een boom kan al jaren ziek zijn, d.w.z. vaatverkleuringen hebben, voordat men uitwendige verschijnselen ziet. De jonge infecties zijn niet altijd direct zichtbaar. Hoe hooger de zomertemperatuur, hoe beter zij zichtbaar zijn. In de tijden van hittegolven is het acuut afsterven het grootst. Het verbreiden van de oude infecties in den boom, waardoor over groote afstanden vaten buiten werking treden, wordt gewoonlijk begin Juni zichtbaar. Infecties vinden plaats van Juni tot eind Augustus.

Een zieke boom geneest niet; of de ziekte „sleepend" wordt, of dat zij in luttele jaren den boom velt, hangt van den ouderdom van den boom en van de zomertemperatuur af.

Alle verschijnselen van verbreiding wijzen erop, dat de sporen van de zwam zich door de lucht met den wind verbreiden. Wij hebben geen sporen op doode takken of stammen gevonden, maar het onderzoek hiernaar moet zeer uitgebreid opgezet worden. In Engeland heeft men echter sporen op doode stronken gevonden.

Takken met „verkleurde vaten" lijden lang niet altijd aan de iepenziekte. De verschillende verkleuringen, die op verschillende oorzaken berusten, zijn echter door nauwkeurige studie zuiver te onderscheiden.

Er is geen kwestie van, dat wij „alles van de iepenziekte" weten. Dit is echter van geen enkele plantenziekte het geval: hoe beter onze methoden van

onderzoek worden, hoe meer wij echter bijzonderheden over de ziekten zullen leeren kennen.

Algemeene beschouwingen

Spierenburg wees er in haar publicaties reeds op, dat een ieder wijsheid over de iepenziekte verkoopt en dat ieder zich over de geringste deskundige uitlating daaromtrent critiek aanmatigt.

Ik zou na jaren nog iets verder willen gaan. Ik zou willen zeggen, dat de iepenziekte aanleiding geeft tot menschelijke psychose. Couranten nemen rijp en groen op „om alle meeningen tot uiting" te laten komen. Dat er „meeningen" en meeningen bestaan, is men ongeveer vergeten. De Hollander is bang voor zijn iep, hoort niet graag, dat de iepenziekte een infectieziekte is en is dol blij, als er aanmerking wordt gemaakt op infectieproeven, waardoor hij dan weer kan inslapen met het idee, dat 't „tijdelijke beroerdigheid van den iep is". Leeken houden voordrachten en brabbelen: een kunstmatige infectieproef heeft niets met de natuur te maken, enz. enz. Ik heb reeds vroeger gezegd, dat het verloop van de ziekte zoo typisch die van een infectieziekte is, dat ik daaraan nog niet zou twijfelen, ook al was er nu nog geen parasiet gevonden.

Onder de „psychose" kon men ook rekenen, dat een tijdlang menschen zich door een fabriek mangaansulfaat lieten aanpraten, dat gepousseerd werd als geneesmiddel, omdat het de (veenkoloniale) „bodemziekte" van de haver geneest. Er is geen enkel reden om aan te nemen, dat dit op een vaatinfectie eenigen invloed heeft.

Genezing en bestrijding

Nadat met zekerheid is vastgesteld, welke de oorzaak van de iepenziekte is, en nu een groot deel van het leven van den parasiet bekend is, komt de vraag: is de ziekte te bestrijden?

Dat een zieke boom uit zichzelf niet geneest, blijkt duidelijk, wanneer wij hem eenige jaren gadeslaan. In het voorjaar, wanneer de bladeren pas uitgeloopen zijn, lijkt het soms, of de ziekte overwonnen is, maar in den loop van den zomer blijkt wel, dat dit niet het geval is geweest. Laten wij een zieken boom staan, dan bezwijkt hij op den duur, hetzij binnen enkele, hetzij na vele jaren.

Een bestrijdingswijze, die in de praktijk wordt toegepast, is het z.g. kandelaberen. Theoretisch kan men natuurlijk, als er nog slechts enkele infecties in een boom aanwezig zijn, deze uitsnijden. Daarom heeft men door deze sterke insnijding een boom wel eens gezuiverd. Maar men weet natuurlijk nooit, of alle aantastingen zijn weggesneden en gewoonlijk blijft zoo'n boom toch aan infectie uit de omgeving blootgesteld en wordt hij vroeg of laat weer ziek. Dit middel is dus uiterst zelden afdoend.

„Men" vraagt om een stof, waarmede de wortels besproeid kunnen worden, die opgenomen wordt, den parasiet doodt en bovendien de boomweefsels niet aantast. Dat zulke stoffen zouden bestaan, is zeer onwaarschijnlijk. Men moet er vooral mede rekenen, dat een wortel uitkiest en niet alles klakkeloos op-

neemt. Zijn de bewuste stoffen giftig voor levende cellen, dan zullen zij allereerst de wortelharen doodmaken en dan kan de boom totaal niets meer opnemen. „Men" bedenkt ook geneesmiddelen, waarmede een boom moet worden ingespoten en zoodanig geprikkeld, dat de ziekte wordt overwonnen. Bij den tegenwoordigen stand van onze kennis bieden deze middelen uitermate weinig kans van slagen. Ik noemde reeds boven het mangaansulfaat.

Vermeende gunstige resultaten op het gebied van bemesten en inspuiten met chemicaliën zijn, voor zoover mij bekend, terug te brengen op onzuivere proeven. Van vergelijkbare „contrôleboomen" was nooit sprake. Menige boom ziet er in het voorjaar beter uit dan in den vorigen zomer, omdat de jonge takken gezond uitloopen. Ook hier heeft de meer vermelde leeken- en halfleekenpraat zeer veel kwaad gedaan.

In de moderne geneeskunde spelen de immunisaties en vaccinaties een groote rol. Het begrip „serumtherapie" laat zich echter als zoodanig niet in de phytopathologie invoeren. Een boom heeft niet een circuleerenden sapstroom, die vergeleken kan worden met den bloedsomloop bij den mensch; de sappen van een plant en bloed zijn niet vergelijkbaar. Als men een oplossing in den stam van een boom inspuit, is er geen kwestie van dat die stof dan alle vaten van alle takken bereikt.

Als directe bestrijdingsmaatregel zou dan overblijven het vernietigen van de sporen van de zwam door chemicaliën. Door de enkele vondsten, die men heeft gedaan, lijkt het, of deze zich in doode schors of op stompen van doode iepen vormen.

Bij een boom met groote kroon, als de iep heeft, is het even ondoenlijk de sporen op doode boomen direct te vernietigen, als gezonde kronen als voorbehoedmiddel te bespuiten. De infectie valt in den tijd, dat de kronen bebladerd zijn en dan kan men nooit alle *takken raken*. (Juni—Juli—Augustus). Het is nog mogelijk, dat men andere schuilplaatsen van de sporen ontdekken zal, of dat men de wintersporen (ascosporen) van de zwam zal vinden, maar dit is nog niet geschied.

Als indirect bestrijdingsmiddel zou men kunnen aangeven: de vernietiging van zieke exemplaren, om de infectiekans voor de gezonde boomen geringer te maken.

Deze wijze van bestrijding kan uit den aard der zaak slechts worden toegepast in streken, waar de ziekte nog slechts uiterst sporadisch voorkomt. Voor ons land zou een dergelijke maatregel geen zin hebben, daar de ziekte hiervoor veel te algemeen is en de lucht met sporen bezwangerd moet zijn. In speciale gevallen, bijv. bij lange iepenlanen, waar een enkel exemplaar is aangetast, kan men de ziekte misschien keeren door de eerste zieke exemplaren om te hakken, daar dan de buren minder spoedig ziek worden. Is de geheele rij echter licht aangetast, dan kan men de boomen laten staan, totdat de laan leelijk wordt, zonder dat men angst behoeft te hebben, dat de infectiekansen voor de geheele streek belangrijk toenemen, daar deze toch over ons heele land zeer groot zijn.

Geheel iets anders wordt het natuurlijk, wanneer wij komen in streken, waar

de ziekte pas begint op te treden en dus sporadisch voorkomt en zich vaak vanuit een enkelen haard verspreidt.

Men kan dan ten minste pogingen doen de ziekte te keeren door dergelijke haarden uit te roeien en ook de iepen in de buurt daarvan om te hakken, die mogelijk al licht en uiterlijk niet zichtbaar geïnfecteerd zijn.

In Engeland, waar men de ziekte eerst voor enkele jaren waarnam, meende men tot dit middel te moeten besluiten. Bij een systematische inspectie van de iepen bleek de ziekte al veel meer verspreid te zijn, dan men aanvankelijk gemeend had, zoodat het practisch onuitvoerbaar bleek, alle aangetaste exemplaren om te hakken en te verbranden.

In een land als Denemarken b.v., waar Graphium nog niet is geconstateerd, zou bij een eerste infectie uitroeien van zieke boomen een kleine kans van beperking geven.

Het is ons gebleken, dat op kweekerijen in Nederland wel eens zieke moerboomen voorkomen. Zij vormen zeker een bron van infectie, ook al zijn jonge boomen gedecideerd minder vatbaar dan oudere. Aan den anderen kant worden op kweekerijen boomen geregeld ingesnoeid en verplant, waardoor jonge infecties direct worden verwijderd.

Er is naar onze meening slechts één weg, welken men kan bewandelen om te probeeren weer gezonde iepen te verkrijgen. De iep, die langs onze dijken geplant wordt, is een afleggerboom, een boom, die steeds ongeslachtelijk wordt doorgeteeld. Dit brengt mede, dat een éénvormig type wordt aangeplant. Bij „zaadboomen" als eiken en dennen loopt het type meer uiteen. Ons type, onze Hollandsche dijkiep, en ook het monumentale type, dat men in steden graag aanplant, is, wij weten het, uiterst gevoelig voor de ziekte. Niemand weet of er niet andere typen bestaan, die voor ziekte veel minder gevoelig zijn.

De iepenziekte is een typische vaatziekte. Er zijn vele vaatziekten bij kruidachtige gewassen goed bekend (b.v. veroorzaakt door Fusariumsoorten). Juist in het geval van deze ziekten kent men zoogen. resistente rassen. Bij de verwelkingsvaatziekten van katoen, tomaat, meloen, vlas, kool, zijn in de Vereenigde Staten talrijke typen geselecteerd, die weinig gevoelig en zelfs geheel ongevoelig zijn. Welke de eigenschappn zijn, die dze resistentie meebrengen, weet men niet. Toch zijn de beste voorbeelden juist in deze rubriek van ziekten bekend.

Het is daarom in 't geheel niet ondenkbaar, dat bij den iep ook zulke typen te vinden zijn. De proeven van Dr. Buisman met infectie van zaailingen wijzen in deze richting. Ook weten wij, dat er tuin-typen zijn (b.v. de montana fastigiata), welke minder gevoelig zijn dan de dijkiep.

Doordat Dr. Buisman een methode uitwerkte, waarbij men in den zomertijd reeds na 10 dagen kan zien, of de iep de ziekte aanneemt, zal het mogelijk zijn in de toekomst snel iepen op vatbaarheid te keuren. Ik meen echter, dat deze typen meer dan één jaar achterelkaar beproefd moeten worden, om zeker te gaan, dat zij onder geen omstandigheden ziek zullen worden. Zulke typen zullen vermenigvuldigd moeten worden en telkens weer op resistentie beproefd. Moet allereerst naar een geschikten dijkboom gezocht worden, daarnaast zal

men talrijke soorten en variëteiten van Ulmus, die in parken en tuinen geteeld worden, kunnen keuren.

Onze kennis van de vele variëteiten is zeer gering. Men praat ook van bastaarden, alsof men ze had zien ontstaan: meer systematische kennis van „iepen" zou ons hierbij kunnen helpen.

De iepetypen moeten uit ons land en uit andere landen verzameld worden. Het infecteeren van deze boomen moet oordeelkundig geschieden in een proefaanplant met voldoende exemplaren om telkens boomen te rooien.

De weg, die hier tot het doel kan voeren, is lang; hij is veel langer dan in geval van kruidachtige planten, vooral daar de iep gevoeliger is als twintigjarige, dan als tweejarige boom. Toch is dit het eenige, wat te doen staat. Voor Nederland, waar de iep de belangrijkste boom voor onze eigenaardige lage landen is, moet gezocht worden deze boomsoort te behouden. Men zal een type moeten vinden, dat niet in zoo hooge mate te lijden heeft als het nu aangeplante.

Het zoeken naar een anderen „Hollandschen iep" is het eenige, dat tegen de iepenziekte ondernomen kan worden en het zou onverantwoordelijk zijn dit niet te probeeren. Het is een Jan Salie-politiek om te „gelooven", dat deze ziekte wel vanzelf verdwijnen zal. Gelukkig dat onze medici tèn opzichte van onze ziekten dit geloof nooit gecultiveerd hebben. Laten wij het voor onzen iep ook niet doen.

DEEL II

Onderzoek naar de oorzaak van de Iepenziekte

door CHRISTINE BUISMAN

INLEIDING

Door Professor W e s t e r d ij k werd mij opgedragen een onderzoek in te stellen naar de *oorzaak* van de iepenziekte. Daarom begin ik dit verslag met een beschrijving van de isolatie- en infectieproeven, die mij tot een zekere conclusie aangaande die oorzaak hebben gebracht. Dan volgen eenige besprekingen over de wijze, waarop de natuurlijke infectie kan plaats hebben, terwijl daarna een beeld wordt gegeven van de verschijnselen van de iepenziekte, zooals die zich in de natuur voordoen.

Naast „de" iepenziekte blijken bij iepen nog andere ziekteverschijnselen voor te komen, die in een of ander opzicht op die ziekte gelijken, maar die een geheel andere oorzaak hebben. Ten einde een zoo scherp mogelijk beeld van de echte iepenziekte te verkrijgen, worden deze „bijkomstige ziekten" afzonderlijk besproken (Deel III). Ik wil er echter den nadruk op leggen, dat ze slechts in zooverre bestudeerd zijn, als met betrekking tot de echte iepenziekte wenschelijk was. In het algemeen kan gezegd worden, dat deze ziekten op het oogenblik nog van geringe oeconomische beteekenis ten opzichte van de iepencultuur zijn.

HOOFDSTUK I

Uiterlijk van het hout van een aan iepenziekte lijdenden iep

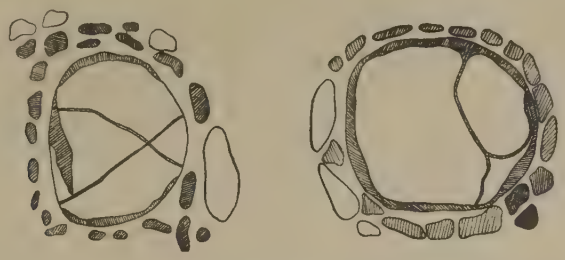
Bij onderzoek van het hout van een aan iepenziekte lijdenden iep blijkt, dat dit hout bruine verkleuringen vertoont (Foto 3). Deze verkleuringen kunnen zoowel in de kleinere takken als in stam en wortels voorkomen. We vinden ze meestal in verschillende jaarringen. Op dwarsdoorsnede van zieke takken doen ze zich voor als stippen; komen er veel stippen in één jaarring voor, dan maken ze den indruk van een bruinen ring. Splijt men een zieken tak overlangs, dan ziet men de verkleuringen als bruine strepen. Is de laatste jaarring van een tak aangetast, dan ziet men na verwijdering van de schors deze strepen doorschemeren. Ze blijken niet continu over een langen afstand, maar ze zijn telkens onderbroken. Van het omringende weefsel zijn ze niet zeer scherp gescheiden. Vooral bij sterke aantastingen maakt het den indruk, alsof de bruine kleur eenigszins is uitgevloeid, waardoor het hout een bruinviolette tint aanneemt.

Bij microscopisch onderzoek van een dwarsdoorsnede van de houtverkleuring blijkt, dat deze verkleuring dikwijls beperkt is tot de groote houtvaten en de hen omringende houtparenchymcellen.

De inhoud van de bij het aangetaste vat gelegen parenchymcellen is donker gekleurd, maar naarmate ze verder van dit vat gelegen zijn, wordt de verkleuring lichter. De aangetaste vaten zelf zijn opgevuld met thyllen en een gomachtige substantie. Deze zijn het best waar te nemen aan een lengtedoorsnede van het zieke hout. De gomachtige substantie is niet altijd gelijk van kleur, maar wisselt van donkerbruin tot rood of geel. Zij komt voor als proppen van verschillende grootte, of als een meer homogene massa. In vele gevallen schijnt zij opgebouwd te zijn uit kleine korreltjes, waardoor ze eenigszins het uiterlijk van een bacteriemassa verkrijgt.

Evenals Stapp (32, 39) ben ik ervan overtuigd, dat we hier niet met een levend organisme hebben te maken. Soms raken kleine deeltjes los en vertoonen dan Brownsche beweging. Men zou ze dan zeer licht voor bacteriën kunnen houden. De thyllen en gommassa's bemoeilijken het microscopisch onderzoek ten zeerste, wanneer het er om gaat een organisme op te sporen, dat mogelijk de oorzaak van de ziekte zou kunnen zijn. Toch trof

ik in enkele gevallen hier en daar in het hout zeer dunne draden (hyphen) aan. (Teekening 1).



Teekening 1
Mycelium van Graphium ulmi in houtvaten van iep.
Vergroot 540 ×

Tientallen coupes heb ik echter doorgezocht, alvorens mycelium te vinden. Merkwaardig was, dat in enkele takken, die zich in niets van andere „iepenzieke" takken onderscheidden, het mycelium vrij gemakkelijk was op te sporen. Kleuring met katoenblauw doet de schimmeldraden duidelijk uitkomen, maar ook ongekleurd zijn ze goed te onderscheiden. In oude aantastingen zal men het mycelium niet vinden, en ook in vaten, die geheel met de gomachtige substantie en thyllen zijn opgevuld, zal men er tevergeefs naar zoeken. Sclerotien, zooals Wollenweber zag in aangetaste vaten (39), heb ik nooit kunnen aantreffen.

HOOFDSTUK II

Kweekproeven

Bij het maken van isolaties uit het zieke hout ging ik op de gebruikelijke wijze te werk. Ik sneed kleine stukjes van het te onderzoeken object, veelal een tak, soms ook een wortel van een aangetasten boom. Deze stukjes dompelde ik in alcohol van 96%, ten einde ze van de aanhangende lucht te bevrijden en zoo het desinfectiemiddel beter te laten inwerken. Ten einde ze van buiten te desinfecteeren, schudde ik ze daarna eenige minuten met 0,1 % sublimaatoplossing. Hierna werden de stukjes grondig met water afgespoeld en uitgelegd in een petrischaal met voedingsbodem.

Het bleek op deze wijze niet altijd mogelijk alle uitwendig op een tak levende organismen te dooden. Daarom schilde ik de stukjes tak na het uitwendige desinfecteeren met geflambeerde instrumenten. De bast, die geen ziektesymptomen vertoont, wordt dan verwijderd. Ten einde de aangetaste vaten in onmiddellijke aanraking met den voedingsbodem te brengen en zoo het uitgroeien van eventueele microörganismen te vergemakkelijken, werden de stukjes tak gespleten in twee helften en deze helften met den platten kant naar beneden in de petrischaal gelegd.

Door de stukjes af te drogen met steriel vloeipapier alvorens ze te schillen, bewerkt men, dat ze droog op den voedingsbodem komen. Dit bevordert het ontstaan van zuivere cultures.

Ten einde alle eventueel in de aangetaste vaten voorkomende organismen een kans te geven op een voor hen geschikten voedingsbodem uit de stukjes tak te groeien, nam ik verschillende voedingsbodems: kers-, mout-, bouillon- en havermoutagar. Bovendien maakte ik een reeks moutagarbodems van verschillenden zuurgraad, loopende van P_H 5,2 tot P_H 7.

Het resultaat van deze isolatieproeven was, dat altijd op alle bovengenoemde voedingsbodems één zelfde schimmel uit het hout te kweeken was, wanneer in dat hout de speciale bruine verkleuring voorkwam, die ik boven heb beschreven. Zelfs wanneer de takken nog volkomen gezonde, groene bladeren dragen, is deze schimmel er uit te kweeken, wanneer in het hout die verkleuring zichtbaar is. Ook uit wortels met dergelijke bruin gekleurde

vaten is zij te isoleeren. Deze schimmel is de door Schwarz beschreven *Graphium ulmi.* (27).

Het is echter in geen enkel geval mogelijk geweest *Graphium ulmi* te kweeken uit takken, die de bruine houtverkleuring niet vertoonden. Noodzakelijk gaat dus met dit speciale ziekteverschijnsel in het hout het voorkomen van *Graphium ulmi* gepaard.

De mycologie van *Graphium ulmi* is eerst door Schwarz (27) en daarna door Wollenweber (39) uitvoerig behandeld, zoodat ik daar niet nader op behoef in te gaan. Slechts wil ik vermelden, dat ik de door Wollenweber genoemde sklerotiën ook kon vinden in cultures op gesteriliseerde iepentakken.

Duidelijk traden bij mijn isolaties twee typen op — het eene type maakte op kersagar zeer gemakkelijk coremiën, het andere niet. Dit tweede type kon op gesteriliseerde iepentakken wel overvloedig coremiën voortbrengen. Vooral dit type vormde op kersagar de zeer karakteristieke ringen, die op de foto's 4 en 6 zichtbaar zijn.

HOOFDSTUK III

Infectieproeven

Bij het nemen van infectieproeven heeft men te maken met verschillende factoren, te weten:

het materiaal van den gastheer,
het materiaal van den parasiet,
tijd, plaats en wijze van infectie.

§ 1. *Het voor de infectieproeven gebruikte iepenmateriaal*

Het zou wenschelijk zijn de infectieproeven te nemen op iepen van „middelbaren" leeftijd, daar deze in de natuur het meest door de iepenziekte worden aangetast. Bij den tegenwoordigen omvang van de iepenziekte is het echter niet geschikt oudere boomen voor deze proeven te gebruiken. De eerste eisch toch, dien men aan de proefboomen moet stellen, is, dat ze volkomen gezond zijn en dit is slechts dan uit te maken, indien men om zoo te zeggen iederen tak op het voorkomen van iepenziektehoutverkleuringen kan controleeren. Dit is bij hooge boomen niet mogelijk en men moet dergelijke boomen dan ook liever niet gebruiken voor het nemen van infectieproeven.

Prof. Westerdijk en ik hebben persoonlijk de boomen, die voor infectieproeven moesten dienen, op verschillende kweekerijen uitgezocht en ons er terdege van overtuigd, dat er geen iepenziekte in voorkwam.

De aldus met zorg uitgezochte boomen, waarvan we zeker wisten, dat de ziekte er niet in voorkwam (daar de ziekte in kweekerijen betrekkelijk weinig optreedt, heeft men zelfs zonder contrôle de meeste kans, hier gezonde boomen te verkrijgen), werden in den proeftuin te Baarn uitgeplant in grond, waarin nooit te voren iepen hadden gestaan. Ofschoon natuurlijk in de buurt wel zieke iepen waren te vinden en dus de kans op spontane (natuurlijke) infecties bestond, kan ik verklaren, dat ik daarvan buitengewoon weinig last heb gehad en dat (ik zou haast zeggen boven verwachting) in geen enkel opzicht de resultaten van mijn infectieproeven daardoor werden vertroebeld. Nu, na

twee jaar werken, blijken er echter enkele spontane infecties op te treden, die een volgend jaar de proeven zouden bemoeilijken, en die hoogst waarschijnlijk een gevolg zijn van besmetting door kunstmatig geinfecteerde boomen.

Vele van de proefboomen waren ongeveer 2-4 jaar oud en hadden op zwaren grond (Betuwe) gestaan, waardoor ze lange scheuten hadden gevormd en reeds eenige meters hoog waren. Oorspronkelijk waren deze boomen geen zaailingen, maar afleggers. Enkele iets oudere boomen (5-6-jarige) waren afkomstig uit kweekerijen te Baarn en Zeist.

Hier dient de opmerking te worden gemaakt, dat de systematische plaats van de verschillende iepensoorten nog niet is opgelost. In Holland wordt als weg- en dijkboom gebruikt „Ulmus campestris latifolia Aiton" die veelal beschouwd wordt als een bastaard van campestris en montana. Door C. E. Moss (Gardeners' Chronicle 1912) wordt de hollandsche iep vermoed te zijn een bastaard tusschen U.montana Stokes = U.scabra Miller en Ulmus nitens Moench. Wij hebben de oude benaming nog aangehouden, daar wij in deze geen uitspraak kunnen doen.

Naast U.campestris latifolia wordt in de Hollandsche steden veel U.campestris monumentalis aangeplant.

Zoowel U.campestris latifolia als U.campestris monumentalis waren dus onder de proefboomen; van beide werden kroonboomen en veervormige boomen gebruikt. Verder werden nog een aantal proeven genomen op 2- en 3-jarige zaailingen en éénjarige afleggers.

In onze proeftuin had ik dan nog de beschikking over enkele boomen van minder algemeen voorkomende soorten en variëteiten, U.montana, U.montana plumosa U.montana Dampieri aurea. U.montana gigantea, U.campestris suberosa, U.elliptica.

§ 2. *Het voor de infectieproeven gebruikte materiaal van Graphium ulmi*

Voor het infecteeren gebruikte ik verschillende *Graphium*-isolaties, zoowel stammen, die op kersagar veel coremiën vormden als stammen, waarbij dit niet het geval was.

De gebruikte isolaties waren verkregen uit takken van verschillende boomen, één zelfs uit een tak, die ons uit Engeland was toegezonden.

Het Graphiummateriaal, dat voor infectieproeven moest dienen, werd steeds in buisjes op kersagar gekweekt. Om een sporensuspensie, die ik dikwijls noodig had, te verkrijgen, werden deze cultures met water geschud. De zoo verkregen dunne, witachtige vloeistof werd gebruikt voor injiceeren of bespuiten.

Bij de contrôleproeven werd met water, een enkelen keer met verdunden bouillon gewerkt in plaats van met Graphium-mycelium of -sporen. Verdunden bouillon gebruikte ik, omdat ik bij mijn infectieproeven met bacteriën (zie Deel 2 Hoofdstuk 2) met een verdunde bouilloncultuur inspoot. Voor een goede vergelijking was het dus noodig ook enkele contrôleproeven te doen met verdunden bouillon.

§ 3. *Tijd, plaats en wijze van infectie*

Met wisselende tusschenpoozen infecteerde ik van Maart—November 1927 en van eind Februari—October 1928.

Infecties werden verricht op verschillende plaatsen van den boom, te weten: op bladeren, bloemen, litteekens van bladeren en bloemen, takken, wortels. Op den stam deed ik geen infecties, daar de stam in het geheel niet in aanmerking komt als plaats, waar in de natuur de infectie plaats heeft.

Bij de wijze van infectie zijn te onderscheiden infecties op onbeschadigde en op verwonde plantendeelen.

Tot de eerste behooren het bespuiten van takken of van heele boomen met een sporensuspensie en het bestrijken van de bladeren met een sporenemulsie door middel van een penseel. Tot de tweede behooren het infecteeren van takken en wortels na beschadiging door mes of injectiespuitje, en het besproeien of bestrijken van verwonde takken en wortels met een sporensuspensie.

§ 4. *Resultaten*

a. Infecties zonder voorafgaande verwonding

Met behulp van een verstuiver, waarin een sporensuspensie, werden besproeid:

1°. een U. monumentalis op 21/10'27,

2°. een U. camp. latifolia op 11/7/28, 16/7/28, 7/8/28, 16/8/28, 17/8/28, 30/8/28, 6/9/28, en 12/9/28.

Later was *Graphium* nergens in de takken aan te toonen. Bloeiende iepentakken werden met den verstuiver bespoten zoowel in de kas als buiten in Maart 1928. Ofschoon deze takken zeer uitvoerig werden gecontroleerd, was slechts éénmaal eenigen tijd na de infectie (18 dagen) een donkere houtverkleuring op te merken, die van een bloem uit een eind naar beneden te vervolgen was. Natuurlijk is de beteekenis van proeven op afgesneden takken zeer relatief. Het is echter niet gemakkelijk, dergelijke infecties van bloeitakken aan hoogere boomen voortdurend te controleeren.

Bladeren werden bepenseeld op 1/6/27 met een sporensuspensie van *Graphium*. Eenig resultaat van de infectie kon niet verkregen worden.

b. Infecties na verwonding op bovengrondsche deelen.

Tabel I geeft de resultaten weer van de infectieproeven, genomen door bespuiten van takken van U. camp. latifolia, waar de bloemen zijn afgetrokken, met *Graphium*-sporensuspensie. Het blijkt dat de resultaten niet veel beter zijn dan bij de intact gelaten takken.

Het bestrijken van bladlitteekens met een sporensuspensie na verwijderen van de bladeren werd uit den aard der zaak in den herfst verricht. 20/10/27 liet ik op eenige bladlitteekens, nadat de bladeren waren afgetrokken, een druppel *Graphium*-sporensuspensie vallen. 21/2/28 werden 3 van deze litteekens

met een stukje tak op een voedingsbodem gelegd, en in alle 3 gevallen werd *Graphium* teruggeïsoleerd. Van een ver doorloopende verkleuring van het hout was hierbij echter geen sprake. In Oct. 1928 deed ik weer hetzelfde bij versche litteekens. Een tak met 12 litteekens, 8/10/28 besmeerd, werd 23/10/28 gecontroleerd: 5 litteekens sneed ik aan. Bij één was een duidelijke, bruine streep te herkennen. De andere 7 litteekens met een eindje tak werden uitgelegd. In 6 van de 7 gevallen isoleerde ik *Graphium* terug.

Op 7/11/28 probeerde ik dezelfde isolatie weer met 4 litteekens, 9/10/28 geïnfecteerd, maar ik kreeg toen geen *Graphium*.

TABEL I

Datum, waarop de bloemen zijn afgetrokken.	Datum, waarop met sporen is gespoten.	Datum van contrôle.	Standplaats.	Aantal afgeplukte bloemen.	Ontstane verkleuringen.
13—3—28	13—17 Maart dagelijks	27—3—28	kas	—	1 van 5 m.M. 1 van 3 m.M. enkele zeer kleine verkleuringen,
16—3—28	16—3—28	29—3—28	kas	128	enkele kleine verkleuringen, geen enkele duidelijke streep.
16—3—28	16—3—28	3—4—28	buiten	107	een enkele uiterst kleine verkleuring op het litteeken.
16—3—28	17—3—28	11—4—28	buiten	110	niets.
19—3—28	21—3—28	11—4—28	buiten	98	een enkelen keer iets zwart op het litteeken.

Bij een anderen tak werden onder 12 geïnfecteerde litteekens stukjes tak afgesneden, die 29/10/28 werden uitgelegd. *Graphium* kwam niet voor. Deze proef werd 8/11/28 herhaald met 4 stukjes tak, eveneens zonder succes. Al deze litteekens waren 9/10/28 geïnfecteerd.

Enkele takken werden 8/10/28 afgesneden en op de wondvlakte met *Graphium*-sporenemulsie ingespoten. 23/10/28 werden isolaties gemaakt van deze takken, en wel van stukjes, genomen vlak onder de snijwond, meer dan 2,4 c.M. en meer dan 4,4 c.M. onder de snijwond. In het eerste geval leverden alle 3 gebruikte stukjes *Graphium* op, in het tweede geval een enkel, in het derde geen.

Verschillende infecties maakte ik nog door onder den knop of in den oksel tusschen knop en tak een wondje te maken en dit met *Graphium*-sporen

te besmetten, of door met behulp van een injectiespuitje deze sporen in te spuiten op de plaats, waar op de litteekens van de afgevallen bladeren de vaten zichtbaar zijn.

21/7/27 bekeek ik een tak, waar ik 19/4/27 *Graphium* onder de knoppen in een sneetje had gebracht. Van 5 geïnfecteerde plaatsen sneed ik een tweetal aan, en 3 legde ik uit op voedingsbodem. Bij de eerste, die aangesneden werd, vond ik een klein, donker streepje naar beneden loopen, bij de tweede was dit streepje 1 à 1½ c.M. lang. De 3 stukjes tak, die ik had uitgelegd, leverden alle 3 *Graphium* op.

8/11/28 legde ik 4 stukjes van een tak uit, waar 11/4/28 op de litteekens in de vaten *Graphium* was gespoten. Uit één van de 4 stukjes isoleerde ik *Graphium terug.*

Een tak werd 5/4/28 op de bladlitteekens ingespoten met *Graphium.* 5 stukjes van dezen tak werden 17/12/28 uitgelegd. Uit alle 5 stukjes werd *Graphium* teruggeïsoleerd. Van een anderen, op dergelijke wijze behandelden tak werd uit 3 van de 4 uitgelegde stukjes *Graphium* teruggeïsoleerd. Een andere tak werd 26/4/28 op de bladlitteekens ingespoten met *Graphium.* 4 stukjes van dezen tak werden 17/12/28 uitgelegd. Uit 2 hiervan werd *Graphium* teruggeïsoleerd.

Ofschoon dus *Graphium* wel in den tak was gedrongen (de uitgelegde stukjes waren uitwendig gedesinfecteerd), waren toch geen lange verkleuringen op te merken. Wel was het merg van de zoo behandelde takken soms verkleurd. Uit deze resultaten blijkt, dat het zeer onwaarschijnlijk is, dat men op deze wijze een verdorren van de behandelde takken zal kunnen bewerken.

8/10/28 maakte ik aan twee takken van een klein exemplaar van U. montana (éénjarige zaailing) zeer veel kleine wondjes, zoowel aan de bladeren als aan de takken zelf. Daarna werd het geheele boompje met een *Graphium*-sporenemulsie besproeid. Uitwendige ziektesymptomen traden niet meer op. 24/10/28 werden 4 takstukjes van de verwonde takken uitgelegd. In 3 gevallen groeide *Graphium* uit deze stukjes, in één geval niets.

In Juli 1927 begon ik met het maken van infecties met behulp van een injectiespuitje aan takken. Ik vulde dit spuitje met een sporenemulsie van *Graphium* en prikte dan met de naald op de te infecteeren plaats, waarna ik de emulsie spoot in het ontstane wondje. Zoo spoot ik 29/7/27 op verschillende plaatsen een paar takken in. Ofschoon de bruine strepen, die tengevolge van deze infectie ontstonden, niet ver naar beneden doorliepen, was toch bij één dezer takken een vroege verkleuring van de bladeren op te merken, terwijl één blaadje bij den top ging verdorren. Op 9/9/27 werden stukjes van deze takken uitgelegd en hieruit werd *Graphium* teruggeïsoleerd.

Bij zeer vele volgende proeven maakte ik een kring van prikwondjes met de injectiespuit rondom een tak. Deze wondjes werden natuurlijk tegelijkertijd ingespoten met de *Graphium*-sporenemulsie. Ik zorgde er voor de houtvaten te bereiken. Prikt men slechts op één plaats in een tak en spuit men daarna sporen in, dan ontstaat van de wond uit slechts aan één kant van den tak een verkleuring. De tak gaat dan niet verdorren. Om aantasting van

Foto 1.

Iep, 17—9—27 en 6—6—28 met Graphium ulmi kunstmatig geïnfecteerd.

Foto 2.
Bovenste gedeelte van den iep van foto 1.

den geheelen tak te verkrijgen, spoot ik hem daarom van verschillende kanten in.

Tabel II geeft eenige gegevens over de lengte van de houtverkleuringen, die tengevolge van deze infectie ontstonden. Bij het meten van deze verkleuringen is steeds de langste bruine streep genomen.

TABEL II. *Infecties op iepentakken*

Datum van inspuiten.	Datum van contrôle.	Lengte bruine strepen, gerekend van de infectieplaats af.	
		NAAR BOVEN.	NAAR BENEDEN.
10—9—27	9—12—27	meer dan 11 c.M.	12 c.M.
17—9—27	9—12—27	meer dan 22 c.M.	11 c.M.
20—9—27	9—12—27	meer dan 32 c.M.	12 c.M.
10—9—27	18— 4—28	23 c.M.	6 c.M.
28—2—28	21— 3—28	4,7 c.M.	2,9 c.M.
26—4—28	5— 6—28	2,5 c.M.	1,2 c.M.
26—5—28	5— 6—28	12,5 c.M.	9,2 c.M.

Bij de in Augustus en September 1927 aldus behandelde takken viel het op, dat deze dikwijls een vervroegde roodkleuring vertoonden.

28/5/28 infecteerde ik eenige takken op de boven beschreven wijze; 15/6/28 werden eenige bladeren aan deze takken slap. Na een paar dagen herstelden ze zich echter weer.

6/6/28 infecteerde ik aan één boom verschillende takken, die ik ook reeds 17/9/27 met *Graphium* had ingespoten. 15/6/28 begonnen aan eenige van deze takken de bladeren slap te worden. Even herstelden ze zich nog na een regenbui, maar dit herstel was slechts van korten duur. De bladeren hingen eerst loodrecht naar beneden, vele kregen zwarte randen en verdroogden dan. Oorspronkelijk verdorden de bladeren alleen boven de infectieplaats, maar 30/6/28 was het verwelken al doorgegaan tot onder de infectieplaats. Steeds liep de ziekte dan door naar den stam tot deze bereikt was, vanwaar uit een groote tak, die in 't geheel niet geïnfecteerd was geweest, tot verdorring werd gebracht. (Foto's 1 en 2).

Ongeveer 5 à 6 weken na de infectie kwam de ziekte tot staan. De toen nog aan den boom zittende groene bladeren verdorden niet meer en bleven tot het laatst toe groen.

6/6/28 werden nog eenige afleggers (2-jarig) ingespoten op dezelfde wijze. Op 15/6/28 was één duidelijk ziek, één iets minder, terwijl bij een derden het verwelken van de bladeren juist begon. Ook hier gingen de boompjes ten slotte niet dood; er bleven van onderen groene bladeren aan.

15/6/28 werden weer 11 afleggers ingespoten. Bij 7 van deze begon 23/6/28 verwelking op te treden.

Tabel III geeft nog verdere resultaten van op deze wijze gemaakte infecties .Ik kan hier nog aan toevoegen, dat eenige infecties van 17/7/28 op *U. Pitteursii* en *U. montana gigantea* geen uiterlijke ziekteverschijnselen opleverden. 30/8/28 infecteerde ik nogmaals eenige takken van *U. montana*. Ofschoon na langen tijd een vergelen van de bladeren zichtbaar werd, verliep de infectie veel minder snel en hevig dan in Juli en begin Augustus.

Tabel IV geeft een overzicht van eenige infecties op 2-jarige zaailingen. De infecties (6 stuks) op 18/9/28 ondernomen op zaailingen van dezelfde partij gaven geen uiterlijk zichtbaar resultaat meer. Daarvoor waren ze blijkbaar te laat in het jaar geïnfecteerd.

TABEL III. *Infecties op iepentakken*

Iepensoort.	Datum van infectie.	Datum van opname van de proef.	Aantal behandelde takken.	Resultaten.		Opmerkingen.
				ZIEK.	GEZOND.	
campestris latifolia	20—9—27 25—6—28	14—7—28	8	5 1 licht 1 één verdord blad.	1	6—7 begin der verwelking.
campestris monumentalis	10—9—27 29—6—28	14—7—28	5	5	0	
campestris latifolia	7—7—28	25—7—28	12	5 verdord 3 vergeeld of slap	1 twijfelachtig 3 gezond	18—7 begin der verwelking.
campestris suberosa	17—7—28	7—8—28	5	5	0	
elliptica	17—7—28	7—8—28	5	5	0	
montana Dampieri aurea	17—7—28	7—8—28	3	3	0	
montana	17—7—28	7—8—28	3	3	—	

c. Wortelinfecties

Rest nog de beschrijving van enkele wortelinfecties. Midden Juli '27 had ik van enkele zaailingen de wortels blootgelegd en eenigszins beschadigd, en ze daarna overgoten met een suspensie van *Graphium*-sporen. Na eenige weken (begin Aug. '27) trad werkelijk verdorring van de bladeren op. Na uitleggen van het hout kwam *Graphium* daaruit te voorschijn.. Het bleek echter, dat vele niet behandelde zaailingen eveneens bruine strepen in het hout vertoonden en later ook dorre bladeren kregen. Uit deze laatste kon ik slechts *Verticillium dahliae Kleb.* isoleeren. Ik kon niet meer uitmaken, of de met *Graphium*

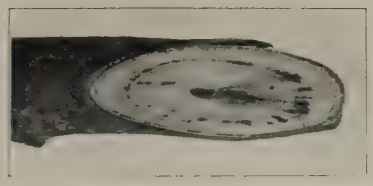


Foto 3.
Donkere stippen in iepenhout als gevolg van de aantasting door Graphium ulmi.

Foto 4.
Terug-isolatie van Graphium ulmi uit tak 17—7—28 geïnfecteerd.
Uitgelegd 15—11—28.
Gefotografeerd 7—12—28.

geinfecteerde zaailingen misschien oorspronkelijk ook door *Verticillium* aangetast waren geweest. Deze proeven hadden dus geen waarde.

Van 2 jonge afleggers werden 6/6/28 de wortels iets beschadigd en daarop met een *Graphium*-sporensuspensie besproeid. Hier trad op 23/6/28 beginnende verwelking op. Later herstelden ze zich weer eenigszins.

Eenige malen maakte ik nog wortelinfecties op de volgende manier. Met een klein boortje werd in een dikken wortel een gat geboord. In dit gat werd een van onderen dun uitgetrokken glazen buisje gezet, dat met *Graphium*-sporensuspensie was gevuld. Dit buisje bleef gedurende langen tijd in de wonde staan. 5/8/27 werd een U camp. latifolia zoo geinfecteerd. 10/9/27 was hij reeds uitwendig ziek. Na omhakken bleek, dat de ziekte zich reeds door den geheelen boom had voortgezet, zoodat niet met absolute zekerheid kon worden uitgemaakt, of het ziek worden een gevolg was van de kunstmatige infectie, of dat een spontane natuurlijke infectie had plaats gehad. Uit den geinfecteerden wortel werd *Graphium* teruggeïsoleerd.

TABEL IV. *Infecties op iepenzaailingen*

Aantal geïnfecteerde zaailingen.	Infectiedatum.	Datum van contrôle.	Aantal zieken.
40	14 of 15—8—28	24—8—28	7
		28—8—28	15
		30—8—28	20
		7—9—28	31
		30—10—28	34
6	18—9—28	15—10—28	0

Stand op 30—10—28: 3 zwaar aangetast, 9 flink, 14 tamelijk, 5 licht, 3 zeer licht, 3 uiterst licht, 9 gezond.

Een *monumentalis*boompje werd 20/7/28 op dezelfde wijze in een wortel geinfecteerd. Ten einde het verloop van de infectie na te gaan, werd deze boom 13/8/28 omgehakt, ofschoon toen uitwendig nog geen ziekte viel te bespeuren. Van den geinfecteerden wortel uit was de bruine verkleuring aan één kant van den stam tot in het bovenste topje over een afstand van 3,45 M. te volgen. Uit het topje kon *Graphium* teruggeïsoleerd worden. In dit geval was dus in tegenstelling met het vorige uit te maken, dat de verkleuring niet door spontane infectie van buiten af was ontstaan, maar wel degelijk in den geinfecteerden wortel haar oorsprong vond.

d. Infectieproeven met 2 organismen en met aftreksel uit zieke takken.

Behalve met *Graphium* nam ik nog eenige infectieproeven met *Graphium* en een bacterie (zie beneden) en met aftreksel uit zieke takken, dat ik verkreeg

door deze eenigen tijd in water te laten uittrekken. Dit leverde geen nieuwe gezichtspunten op. Uit de met aftreksel geinfecteerde takken kon ik *Graphium* niet terugisoleeren. Acute afsterving trad niet op.

e. Contrôleproeven

De genomen contrôleproeven geven geen aanleiding tot verdere bespreking. Duidelijke, ver doorloopende houtverkleuringen treden niet op en evenmin verdorren van bladeren. Slechts een lichte houtverkleuring, waarschijnlijk ten gevolge van de gemaakte wond, is in de omgeving van deze wond op te merken.

TABEL V. *Infectieproeven op andere boomen*

Boom.	Infectiedatum.	Datum van contrôle.	Lengte bruine strepen, gerekend van de infectieplaats af.	
			NAAR BOVEN.	NAAR BENEDEN.
Meidoorn	21—5—28	5—6—28	4 c.M.	7 c.M.
Acacia	28—5—28	5—6—28	9 c.M.	meer dan 14,5 c.M.
Eik	6—6—28	15—11—28	14 c.M.	10 c.M.
Beuk	19—10—27	15—11—28	11 c.M.	11 c.M.

§ 5. *Infectieproeven op andere boomen*

Brussoff legt er den nadruk op, dat verschillende boomsoorten door zijn *Micrococcus ulmi* worden aangetast (6,7,9). Waar gebleken is, dat niet *Micrococcus,* maar *Graphium ulmi* de oorzaak is van de iepenziekte, leek het gewenscht na te gaan, of misschien *Graphium* pathogeen zou zijn ook voor andere boomsoorten dan den iep.

Behalve iepen behandelde ik dus ook eenige andere boomen met *Graphium*-sporen .Ik injiceerde op de gebruikelijke wijze op verschillende plaatsen.

Het bleek, dat op deze wijze bij verschillende boomen bruine strepen in het hout veroorzaakt konden worden. (Foto 5). Taksterven voorafgegaan door bladverkleuringen trad echter in geen enkel geval op. Tabel V geeft eenige maten van de verkleuring tengevolge van de infectie aan.

19/10/27 spoot ik in Acer en linde; 8/11/27 kastanje, eik, meidoorn en wilg; 11/11/27 populier en beuk.

Takken hiervan werden 2/12/27 geoogst.

Van iederen tak werden 3 isolaties gemaakt, stukjes tak van 1 c.M. lengte, genomen 1-4 c.M. van de infectieplaats, werden uitgelegd. Bij kastanje, eschdoorn, populier, eik, beuk en meidoorn werd uit alle 3 stukjes *Graphium* teruggeïsoleerd, bij linde uit 2 stukjes, bij wilg uit 1.

Van een anderen meidoorntak, eveneens 8/11/27 geinfecteerd, en 27/4/28 geoogst, werd *Graphium* teruggeïsoleerd uit een stuk, dat tusschen 14,5 en 17,5 c.M. van de infectieplaats was gelegen.

Foto 5.

Takjes van Robinia pseudacacia kunstmatig geïnfecteerd met Graphium ulmi.
Ook hier ontstaat de bruine verkleuring in het hout.
Boven A heeft de infectie plaats gehad.

Een tak van beuk werd 19/10/27 met *Graphium* geïnfecteerd. 15/11/28 werden hiervan stukjes uitgelegd, genomen tusschen ± 7½ en 10½ c.M. beneden de infectieplaats. *Graphium* kon worden teruggeïsoleerd.

Een tak van eik werd 6/6/28 geïnfecteerd met *Graphium*. 15/11/28 werden hiervan stukjes uitgelegd, genomen tusschen 8½ en 11½ c.M. boven de infectieplaats. *Graphium* kon worden teruggeïsoleerd. (Foto 6).

HOOFDSTUK IV

Bespreking infectieproeven

a. vatbaarheid gastheer

Over de vatbaarheid van verschillende iepensoorten voor de iepenziekte werden bij deze proeven slechts enkele gegevens verkregen. Positieve resultaten werden verkregen bij:

U. camp. latifolia, U. camp. monumentalis, U. camp. suberosa, U. montana, U. montana Dampieri aurea, U. elliptica.

Nu echter vaststaat, wanneer en hoe men de planten moet infecteeren om kunstmatig iepenziekte te voorschijn te roepen, is de oplossing van deze vraag slechts een kwestie van tijd. Reeds kon worden vastgesteld, dat de individuen van één partij campestris-zaailingen uit Frankrijk afkomstig, een verschillende mate van resistentie tegen de ziekte vertoonden. Uit het voorkomen van bruine strepen na de infectie alleen mag nog niet geconcludeerd worden, dat een bepaald individu of een bepaalde soort vatbaar is voor de ziekte. Wij zagen immers, dat bij meidoorns, acacia's etc. deze ook ontstonden als gevolg van de infectie. Slechts het verdorren van de bladeren na de infectie kan als criterium voor vatbaarheid worden beschouwd.

Het is nog mijn indruk, dat pas verplante boomen, waarbij de bladeren het eerste jaar nog niet goed uitgegroeid zijn, minder geschikt zijn voor het nemen van infectieproeven. Exacte gegevens daarover kan ik echter niet verschaffen.

b. Materiaal *Graphium*

Eenige mate van verschil in virulentie bij de verschillende gebruikte *Graphium*-stammen kon niet worden vastgesteld, zoodat zoowel met typische „coremium"-stammen als met kleine sporen werd gewerkt.

c. Tijd, plaats en wijze van infectie

Duidelijk optreden van alle iepenziekteverschijnselen kwam voor, na infecties, genomen tusschen begin Juni en half Augustus. Daarvoor en daarna genomen infecties gaven wel bruine verkleuringen in het hout maar geen

Foto 6.

Terug-isolatie van Graphium ulmi uit eikentak 6—6—28 kunstmatig geïnfecteerd. Uitgelegd 15—11—28.

Gefotografeerd 7—12—28.

Het gebruikte takstukje lag tusschen $8^1/_2$ en $11^1/_2$ c.M. boven de infectieplaats.

verdorren van de bladeren. De na infecties in de wintermaanden en in het vroege voorjaar optredende houtverkleuringen zijn slechts klein.

Als geschikte plantendeelen voor het nemen van infectieproeven komen in aanmerking takken en wortels. Wanneer knoppen of bloemen en bladeren of hun litteekens als infectieplaats werden gebruikt, was het resultaat vrijwel negatief. Van een eenigszins doorloopen van de infectie was hierbij geen sprake, verdorren van bladeren trad in het geheel niet op. De infecties op onbeschadigde boomen of takken hadden een negatief resultaat evenals de infecties, waarbij een tak éénzijdig werd verwond, alvorens hij werd geïnfecteerd. Slechts wanneer aan verschillende kanten *Graphium*-sporen in den tak werden gebracht, kon deze infectie een verdorren van den tak tengevolge hebben. Ook bij het besproeien van van te voren beschadigde wortels met sporen, met welke wijze van infectie ook goede resultaten werden verkregen (al paste ik deze niet dikwijls toe), geschiedt de infectie natuurlijk op verschillende plaatsen van de wortels.

Bij het zoeken naar immune iepensoorten of individuen zal men dus goed doen bij de te nemen infectieproeven op het volgende te letten:

1e. tusschen begin Juni en half Augustus te infecteeren;

2e. ervoor zorg te dragen, dat de takken aan verschillende zijden worden geïnfecteerd, door met een injectiespuitje een kring van kleine wondjes rond den tak te maken en hierin de sporen te spuiten.

HOOFDSTUK V

Natuurlijke infectie

Er moet worden aangenomen, dat bij de iepenziekte de infectie in de natuur door middel van sporen geschiedt. Op de een of andere wijze moeten deze sporen dus uit een zieken boom naar buiten komen. Ik heb in de vrije natuur nooit sporen van *Graphium* kunnen vinden, maar ik heb daarnaar niet systematisch in alle seizoenen gezocht. Wollenweber vond ze in gangen van kevers (39), terwijl in het Leaflet van de Forestry Commission beschreven staat, dat ze in Engeland op stompen van doode boomen en in scheuren tusschen bast en hout werden gezien (14). In welk stadium van de ziekte een boom „besmettelijk" wordt voor zijn omgeving, kan niet met zekerheid worden opgegeven. De boom, die op foto 1 en 2 is afgebeeld, begon 15/6/28 teekenen van verlepping te vertoonen ten gevolge van de kunstmatige infectie, en werd 10/7/28 gefotografeerd. 20/8/28 begon de boom, die er naast stond, spontaan bovenin teekenen van ziekte te geven. Het lag voor de hand, dat hier een besmetting had plaats gehad door den kunstmatig geïnfecteerden boom. Hieruit zou men dus kunnen afleiden, dat een boom, die de ziekte vertoont, vrij spoedig gevaarlijk voor zijn omgeving kan worden.

Twee theorieën aangaande het tot stand komen van infecties in de natuur staan scherp tegenover elkaar, n.l. of de bovengrondsche deelen dan wel de wortels als voornaamste ingangsplaats voor infecties moeten worden beschouwd. De laatste opvatting wordt door Brussoff verdedigd (5, 9), terwijl Schwarz en met haar de meeste onderzoekers van meening zijn, dat de ziekte van bladeren of takken uit verder den boom indringt (27). Hakt men boomen om, die eerst geringe uiterlijke teekenen van iepenziekte vertoonen, dan blijkt in vele gevallen, dat een bruine houtverkleuring zich niet in het onderste gedeelte van den stam of in de wortels voordoet. Waar nu boven is aangetoond, dat het voorkomen van bruine strepen onafscheidelijk verbonden is met het aanwezig zijn van *Graphium ulmi* en dat deze schimmel de typische verschijnselen van de iepenziekte teweegbrengt, mag uit het

niet-voorkomen van bruine houtverkleuringen op een bepaalde plaats worden geconcludeerd, dat de ziekte daar niet aanwezig is. In de gevallen dus, waarbij het hout van de wortels van een zieken boom niet is verkleurd, *moet* de infectie aan de bovengrondsche deelen hebben plaats gehad. Het feit, dat de wortels van bij lange na niet alle zieke boomen zijn aangetast, weerlegt dunkt mij genoeg de meening, dat de algemeene infectie in de natuur door de wortels zou plaats vinden.

Is de ziekte eenmaal in de wortels doorgedrongen, dan bestaat de mogelijkheid, dat wortelopslag geïnfecteerd wordt van den wortel uit, waarop het groeit. Zoo begon hier eens het wortelopslag van een zieke *U. montana fastigiata,* die op *campestris* geënt was, te verdorren. Na afsnijden van den betreffenden wortel kon zoowel vóór- als achter de plek, waaruit de opslag te voorschijn kwam, uit dezen wortel *Graphium* worden geïsoleerd.

Uit mijn infectieproeven blijkt, dat het mogelijk is, dat de schimmel van de wortels uit naar boven groeit. Ik zal dan ook niet beweren, dat nooit, in geen enkel geval, een natuurlijke infectie door een wortel kan plaatsvinden. Het tot stand komen van de groote massa infecties moet echter op andere wijze verklaard worden.

Heeft de natuurlijke infectie door middel van de bovengrondsche deelen plaats, dan staan den parasiet verschillende mogelijkheden om binnen te dringen ten dienste:

1e. natuurlijke wonden (bloem- of bladlitteekens);

2e. kunstmatige wonden (snoeiwonden en insectensteken, mechanische beschadigingen);

3e. natuurlijke openingen (huidmondjes en lenticellen).

Daar de verkleuringen zoo moeilijk te volgen zijn, kon ik in de natuur het juiste beginpunt van een *Graphium*-infectie niet vaststellen. Uit mijn infectieproeven blijkt, dat het mogelijk is, dat *Graphium* door bloem- of bladlitteekens naar binnen dringt. Van een eenigszins goed doorloopen van een dergelijke infectie is echter nergens sprake geweest. De tijden, waarop deze litteekens ontstaan (Maart, April en October-November) zijn ongeschikt voor het doorloopen van de infectie. Schwarz (27) meende, dat de natuurlijke infectie bijna het geheele jaar door mogelijk was. Nu door proeven is gebleken, dat dit niet het geval is, vervalt ook haar opvatting, dat na den bladval nog een algemeene infectie door de bladlitteekens mogelijk is. Het zou natuurlijk mogelijk zijn, dat *Graphium* „latent" eenige maanden op een blad- of bloemlitteeken aanwezig was om dan bij gunstige omstandigheden door te groeien. Hiervan heb ik echter bij mijn proeven nooit iets kunnen merken. Ik ben dan ook van meening, dat bloem- en bladlitteekens uitgeschakeld kunnen worden voor het tot stand komen van de infectie in de natuur.

Zou *Graphium* door snoeiwonden binnendringen, dan zou daaruit natuurlijk volgen, dat gesnoeide boomen meer onder de ziekte te lijden hebben dan andere. Dit nu is geenszins het geval. Integendeel, men heeft dikwijls het „kandelaberen" van boomen aangeraden als een middel om de ziekte tegen te gaan.

Ik heb nooit den samenhang kunnen vaststellen van insectenwondjes en *Graphium*-infectie. De eenige proef, die hierop betrekking heeft, is het bespuiten van een klein *montana*boompje met *Graphium*sporen na het maken van verwondingen in enkele takken en bladeren. Daar het mogelijk bleek *Graphium* uit een aldus behandelden tak terug te isoleeren, zou het kunnen zijn, dat deze schimmel ook door pasgemaakte insectenwondjes binnendrong. De vraag of dit in de natuur voorkomt, is echter nog in het geheel niet opgelost. Heeft de natuurlijke infectie plaats door kleine openingen, dan moet men de boomen ziek kunnen maken door ze te bespuiten met een sporenemulsie van *Graphium*. Dat de resultaten van kunstmatige bespuitingen tot nog toe negatief zijn, bewijst *niet* dat de infectie in de natuur niet op deze wijze plaats heeft. Het was natuurlijk niet mogelijk onder alle omstandigheden deze besproeiïngen uit te voeren. Tijd van het jaar of van den dag, temperatuur of vochtigheidsgehalte van de lucht kunnen hier een rol spelen en speciale combinatie van deze factoren is wellicht noodig voor het tot stand komen van de infectie. Schwarz (27) legde bladeren in een petrischaal, bracht een druppeltje met *Graphium*sporen daarop en zag dan, dat de sporen kiemden en de draden door de huidmondjes naar binnen drongen. Het lijkt me echter niet gewenscht, hieruit de gevolgtrekking te maken, dat in de natuur de infectie op deze wijze plaats heeft. Het is niet waarschijnlijk, dat een vaatschimmel door huidmondjes binnendringt.

Alle behandelde punten nagaande kan men nog slechts vermoedens uitspreken over de juiste plaats van de infectie in de natuur. Naar mijn meening komen kleine openingen het meest in aanmerking als plaatsen, waar de sporen indringen. Waarschijnlijk spelen hier kleine mechanische beschadigingen en insectenwondjes de grootste rol.

Als overbrengers van de ziekte komen voornamelijk in aanmerking *wind* en *insecten*. Bij het overbrengen van een ziekte door insecten kunnen we onderscheiden actief en passief overbrengen. Steekt of bijt een insect eerst in een ziek en daarna in een gezond plantendeel en gaat zoo de ziekte over, dan kunnen we spreken van *actief* overbrengen. *Passief* overbrengen is het versleepen van sporen. Over de eerste wijze van overbrengen bezitten we geen gegevens. Wollenweber (39) vond fructificeerende *Graphium* in gangen van kevers en neemt dus de mogelijkheid aan, dat deze kevers de sporen kunnen versleepen. In Engeland vond men de sporen op insecten, die liepen over zieke iepenstompen. (14).

Verder neemt Wollenweber nog als mogelijke verspreiders van sporen aan: vogels, stof en pakmateriaal. Het lijkt echter onwaarschijnlijk, dat de groote massa van infecties langs één dezer wegen tot stand komt. Het feit, dat dikwijls de boomen op winderige straathoeken eerder ziek worden dan daar vlakbij staande, minder aan den wind blootgestelde exemplaren, pleit voor de opvatting, den *wind* als voornaamsten verspreider van de sporen te beschouwen. Daar de sporen zeer klein zijn, behoeft haar gewicht geen bezwaar te zijn voor deze meening, evenmin als het feit, dat ze in slijmerige massa's voorkomen. Het is bekend, dat de geelziekbacterie van de hyacinthen ook door den wind

wordt verspreid, en iets meer slijmerigs dan een verzameling bacteriën kan men zich moeilijk voorstellen. Ik beschouw dan ook den wind als den voornaamsten factor bij het verspreiden van de infectie.

HOOFDSTUK VI

Symptomen en voorkomen van de iepenziekte

§ 1. *Uitwendige symptomen*

In de laatste jaren, van 1919 af, kunnen in de eerste helft van Juni iepen plotseling hun bladeren laten hangen. Na enkele dagen verdrogen deze loodrecht naar beneden hangende bladeren en worden dan bruin.

Bij enkele boomen verdrogen zoo alle bladeren en deze zien er dan als verbrand uit, terwijl bij andere slechts een gedeelte van de kroon op een dergelijke wijze wordt aangetast en de rest er gezond blijft uitzien. De dorre bladeren blijven nog langen tijd aan de takken hangen. De uiteinden van de takken krommen zich als gevolg van de aantasting. Het topblaadje valt pas lang na de overige bladen af en zoo ontstaan de „vanen", kale, gekromde takken met een of twee verdorde eindblaadjes die Schwarz reeds in haar publicatie beschrijft (27) en die zeer teekenend zijn voor de iepenziekte. Ook later in den zomer kan men nog boomen plotseling zien verdorren. Is een boom of een gedeelte daarvan vroeg ontbladerd als gevolg van de iepenziekte, dan kan het zijn, dat de kale takken later in den zomer opnieuw uitloopen, maar de nieuwe blaadjes zijn dan klein en gering in aantal. —

Aan zieke boomen zien we verder dikwijls, dat de slapende knoppen aan den stam en de dikkere takken uitloopen, waardoor veel jong „uitslag" ontstaat. Soms is deze uitslag nog groen, terwijl de heele boom reeds ontbladerd is, in andere gevallen verdort de uitslag vrij spoedig na zijn ontstaan.

Naast de boomen met dorre of ontbladerde kronen kan men later in het seizoen andere opmerken, die dun in blad staan, enkele kale takken hebben en er over het geheel ziekelijk uitzien. Dergelijke boomen geven den indruk, alsof ze door wind beschadigd zijn.

Na onderzoek is gebleken, dat deze ziektebeelden verschillende uitingen zijn van één ziekte, de echte iepenziekte.

Reeds Spierenburg en later Wollenweber en Stapp spreken dan ook van een acuut en van een slepend optreden van de iepenziekte. Het maakt den indruk als of het slepende of chronische optreden de laatste jaren is toegenomen ten opzichte van het acute optreden. Het acute beeld is echter veel opvallender en daardoor is in de eerste jaren van het optreden der ziekte daar waarschijnlijk meer aandacht aan geschonken.

Aan het eind van het seizoen zijn verschillende boomen dood als gevolg

van de iepenziekte. Men ziet den bast loslaten en het hout is verdroogd. Niet alle boomen echter, die in den loop van het seizoen dorre bladeren vertoonden, sterven daarop. In den winter zijn dergelijke zieke boomen veelal wel te herkennen. In de eerste plaats zijn ze in hun groei gestuit en daardoor kleiner dan gezonde boomen van denzelfden leeftijd. In lanen, bestaande uit even oude boomen, is dit verschijnsel gemakkelijk op te merken. Verder zijn de uiteinden van zieke takken dikwijls gekromd, zooals boven reeds is gezegd. Ziet men dus in den winter een boom met kromme takjes, dan is dit in vele gevallen een aanwijzing, dat men met een zieken boom te doen heeft. In de derde plaats is het voorkomen van veel jong uitslag aan stam en dikke takken hiervoor een aanduiding.

In het voorjaar is te zien, dat verschillende iepen, die reeds in het vorige jaar teekenen van iepenziekte vertoonden, overmatig sterk bloeien. Dit optreden van zeer veel bloesem zien we b.v. ook bij appelboomen, die aan kanker lijden. Het rijke bloeien is een gevolg van de ziekte.

Dadelijk na het uitloopen van de bladeren is van de ziekte niet veel te bemerken, ook niet bij boomen, die het vorige jaar allesbehalve gezond waren, al zijn de bladeren van dergelijke boomen wel eens iets kleiner en minder in aantal dan die van hun gezonde buren.

In de eerste helft van Juni treedt de ziekte dan weer in alle heftigheid op. Hoe lang het kan duren, alvorens een boom tengevolge van de ziekte sterft, daarover zal ik het hebben bij de bespreking van de lengte van het ziekteproces.

§ 2. *Vatbaarheid voor de ziekte van boomen van verschillende standplaats, leeftijd en soort*

Gaan wij de verspreiding van de iepenziekte na, dan blijkt, dat deze ziekte over een groot gebied voorkomt, en *wel op zeer verschillenden bodem*. Iepen, die op zeer vochtige plaatsen groeien, worden even goed ziek als exemplaren, die op drogen grond staan. Ook de geaardheid van den bodem schijnt geen rol te spelen. Aan de gegevens in vroegere publicaties inzake de verspreiding van de iepenziekte heb ik niet veel toe te voegen. Uit geheel West-Europa met uitzondering van Spanje, Skandinavië en Denemarken wordt een optreden van de ziekte gemeld. Naar het Oosten treffen we deze tot in Breslau en Oostenrijk aan. In Engeland, waar men aanvankelijk vrij van de ziekte hoopte te blijven, is deze nu reeds zeer verbreid.

Hoewel in Amerikaansche publicaties van de laatste 30 jaar hier en daar melding wordt gemaakt van een iepensterven van ernstigen aard in verschillende staten, zooals reeds door Wollenweber is opgemerkt (39), heb ik geen positieve gegevens over het optreden van *Graphium ulmi* aldaar kunnen verkrijgen, hoewel ik met vakmenschen uit de bewuste streken over die epidemieën gecorrespondeerd heb. Ofschoon ik in vele gevallen naar levend takmateriaal heb gevraagd, gelukte het mij niet, dit te verkrijgen. Insecten worden daar ter plaatse in vele gevallen als de oorzaak van het in die streken voorkomende iepensterven beschouwd.

In Nederland is de ziekte zeer verbreid. Omdat de ziekte hier het eerst is bemerkt, spreekt men in het buitenland dikwijls van Hollandsche iepenziekte (holländische Ulmenkrankheit, Dutch elm disease). Noord-Holland is tamelijk lang vrij gebleven van de ziekte. Nu kan men ook daar gemakkelijk zieke iepen vinden, al is de toegebrachte schade nog niet zoo groot als in andere deelen van ons land.

Dan komt de vraag: *welke* boomen worden ziek? Is er een bepaalde leeftijd, waarop de boomen vatbaar zijn en is er verschil in vatbaarheid bij verschillende individuen en soorten? Let men op den ouderdom van zieke boomen, dan blijkt, dat deze veelal van „middelbaren leeftijd" zijn. Heel jonge en heel oude iepen lijden betrekkelijk weinig aan de ziekte. Vooral de boomen die ± 10—30 jaar oud zijn, worden aangetast, al gebeurt het natuurlijk ook wel, dat jongere of oudere exemplaren aan de ziekte bezwijken. Krijgen oude boomen de ziekte, dan vertoont deze zich dikwijls in slependen vorm, een acuut verdorren van alle bladeren treedt daar slechts zelden op.

Aan hun ouderdom is het wellicht te danken, dat de Amsterdamsche grachtenboomen betrekkelijk nog weinig van de ziekte hebben te lijden gehad. In dit verband kan ik erop wijzen, dat de meeste iepen in Engeland zeer oude exemplaren zijn. Het is te verwachten, dat deze niet zoo plotseling aan de ziekte ten gronde zullen gaan en dat niet zulke algemeene verwoestingen onder de iepen zullen worden aangericht als op het vasteland. Dikwijls ziet men ook in Engeland vooral de jonge exemplaren aangetast.

Het blijkt, dat individuen van eenzelfde soort een verschillende mate van resistentie tegen de ziekte kunnen bezitten. In Baarn werd indertijd een laan met zwaar zieke *Ulmus campestris*boomen omgekapt op drie exemplaren na, die er gezond uitzagen. Deze drie bleven jaren gezond en we meenden reeds met „immune" individuen te doen te hebben, toen ze ongeveer vijf jaar nadat de andere boomen waren omgekapt, toch teekenen van iepenziekte begonnen te geven en ten slotte ook in sterke mate werden aangetast. Dit kan niet alleen een kwestie van verschil in infectiekansen zijn geweest en we moeten dus aannemen, dat verschil in resistentie bij individuen van één soort bestaat.

Van verschillende soorten en variëteiten is reeds haar vatbaarheid ten opzichte van de iepenziekte bekend. De in ons land voornamelijk aangeplante *U. campestris latifolia* [1]) en *U. campestris monumentalis* (deze laatste voornamelijk in de steden) zijn beide zéér vatbaar. *U. montana* wordt in ons land slechts als sierboom aangeplant. Het staat vast, dat hij aan de ziekte kan lijden. Met het voorkomen van iepenziekte in verschillende iepensoorten, die men slechts in botanische tuinen en parken aantreft, heb ik mij niet speciaal bezig gehouden. Ik kan hier slechts opmerken, dat ik de ziekte in *U. montana* en in verschillende variëteiten van *U. campestris* zag optreden.

Kunstmatig kon ik de ziekte teweegbrengen in *U. montana, U. montana Dampieri aurea, U. campestris latifolia, U. campestris suberosa, U. campestris monumentalis* en *U. elliptica.*

---

[1]) Zie ook pag. 21.

§ 3. *Inwendige symptomen en verloop van de ziekte*

Hakt men een iep om, die aan iepenziekte lijdt, dan vindt men in het jonge hout bruine verkleuringen. De macro- en microscopische kenmerken van deze verkleuringen heb ik reeds eerder beschreven. Hier wil ik slechts behandelen de aanwijzingen, die deze verkleuringen geven over het verloop van de ziekte. Er is immers gebleken, dat aan het voorkomen van deze verkleuringen het voorkomen van *Graphium ulmi*, de veroorzaker van de iepenziekte, streng gebonden is, zoodat we inderdaad uit de verkleuringen conclusies over de ziekte mogen trekken.

Gedurende mijn onderzoek was ik meermalen in de gelegenheid zieke boomen om te hakken. Voor het verkrijgen van een inzicht in den loop van de ziekte is het absoluut noodig, boomen in verschillende stadiën van aantasting van boven tot onder te bekijken.

Hakt men een boom om, die nog slechts een enkelen dorren tak heeft, dan loopen in den regel de houtverkleuringen niet ver naar beneden door; het onderste gedeelte van den stam en de wortels zien er dan na doorzagen volkomen blank uit. Naarmate men van den dorren tak naar beneden gaat, nemen de verkleuringen af. (Waar men dergelijke beelden dikwijls vindt, is het uitgesloten, dat de boomen in den regel van de wortels uit geïnfecteerd worden). Niet altijd echter komt de mate van uiterlijke aantasting (verdorren van bladen) overeen met die van inwendige aantasting (houtverkleuring). Het kan gebeuren, dat een boom reeds eenige jaren licht is aangetast, waarbij wel bruine verkleuringen ontstonden, maar niet genoeg om verdorren van bladeren teweeg te brengen, vóórdat door een meer ernstige infectie de ziekte uiterlijk zichtbaar wordt. Hakken we een dergelijken boom om, dan vinden we de houtverkleuring in vroegere jaarringen al tot in stam en wortels doorgedrongen.

Bij het constateeren van de iepenziekteverkleuring in de wortels moet men zeer voorzichtig zijn. Door inrotten van de plek, waar een zijwortel is afgebroken of weggevreten, kunnen verkleuringen ontstaan, die echter zwart zijn en waarvan begin en einde gemakkelijk zijn op te sporen.

Hakt men zwaar zieke boomen om, dan is de bruine verkleuring overal in stam en wortels te vinden, meestal in verschillende jaarringen.

Door omhakken van boomen in verschillende stadiën van de ziekte kan dus met zekerheid vastgesteld worden, dat de infectie van boven naar beneden gaat. Dit neemt natuurlijk niet weg, dat, wanneer een tak in het midden van de kroon het eerst geinfecteerd wordt, de ziekte zich ook naar hoogere deelen kan verbreiden. Bij de kunstmatige infectieproeven blijkt zelfs, dat de schimmel nog vlugger naar boven dan naar beneden groeit.

De bruine verkleuringen bestaan uit door thyllen en gom verstopte vaten. Nu leeft een iep voornamelijk op zijn jongste jaarringen, het oudere hout wordt niet meer voor het watertransport gebruikt. Worden nu als gevolg van de infectie te veel vaten onbruikbaar gemaakt voor watertoevoer, dan treedt (dikwijls in perioden van droogte) een geheel of gedeeltelijk verdorren van den

boom op. Ook grootere of kleinere takken, waarin de bruine verkleuring niet voorkomt en die dus zelf niet ziek zijn, kunnen in het verdrogende boomgedeelte begrepen zijn. Dit is de reden, dat niet a l l e takken met verdorde bladeren de houtverkleuring vertoonen. Zoo gaat soms de jonge uitslag aan den stam dood, zonder dat in de takjes verkleuringen zichtbaar zijn, omdat de stam geheel ziek is.

Doordat de verkleuringen steeds onderbroken zijn, is het mij niet mogelijk geweest, het juiste beginpunt van een aantasting vast te stellen.

Ziet men een verkleuring, die duidelijk van een bladsteel of een bladlitteeken komt, en gedurende haar geheele verloop goed te volgen is, dan heeft men niet met een aantasting door *Graphium,* maar door bacteriën te doen (zie deel II, hoofdstuk 2). Ik wijs daarop reeds hier, aangezien *Graphium*- en bacteriën-verkleuringen nogal eens in dezelfde takken voorkomen, waardoor verwarringen zouden kunnen ontstaan.

§ 4. *Duur van het ziekteproces*

Bekijkt men omgehakte boomen, die aan iepenziekte hebben geleden, dan blijkt, dat deze veelal in verschillende jaarringen bruine verkleuringen vertoonen. Dit bewijst reeds, dat een boom meerdere jaren ziek kan zijn, alvorens aan de ziekte te sterven. Bij het tegenwoordig veelvuldig voorkomende chronische optreden van de ziekte is dit waarschijnlijk in nog sterkere mate het geval.

Door toevallige omstandigheden kan het proces natuurlijk vlugger of langzamer verloopen. Bij zwaar aangetaste boomen kan men soms zien, dat tusschen de aangetaste jaarringen eenige gezonde liggen. Hieruit blijkt wel, dat de ziekte zich niet horizontaal van jaarring op jaarring door het hout verbreidt. In de jaren, waarin het hout niet was verkleurd, waren blijkbaar voor de betreffende boomen de omstandigheden voor natuurlijke infectie minder gunstig geweest. Op den duur ontkomt een dergelijk vatbare boom echter niet aan de ziekte; daarvoor zijn tegenwoordig de infectiekansen te groot.

Een belangrijke vraag, die nauw met het bovenstaande verband houdt, is, of het mogelijk is, dat, wanneer de ziekte eenmaal in een boom voorkomt, de jonge takken van de oude uit worden geïnfecteerd, of dat ieder jaar van buiten af infecties moeten plaats hebben. Ik heb enkele jonge takken, ontstaan uit overjarige zieke, gesneden, waarin de houtverkleuring onderin voorkwam, maar naar boven toe langzaam verminderde en eindelijk ophield. Ik moet hieruit afleiden, dat soms de ziekte van den ouden in den jongen tak kan overgroeien. Altijd schijnt dit echter niet te gebeuren, aangezien dikwijls de jongste takken van aan iepenziekte lijdende boomen vrij zijn van de ziekte.

Van de in 1928 geïnfecteerde zaailingen is bij 15% de ziekte van het oude hout doorgeloopen in het jonge van 1929. Het is natuurlijk mogelijk dat aan het einde van den zomer 1929 dit percentage nog hooger zal blijken te zijn. Om de kans van dit doorgroeien te bepalen zullen gedurende meerdere jaren waarnemingen moeten gebeuren.

DEEL III

Ziekten van iepen, die in een of ander opzicht gelijken op de echte iepenziekte

door CHRISTINE BUISMAN

HOOFDSTUK I

Verticillium-aantasting van iepen

Het is al lang bekend, dat tot de vele planten, die door *Verticillium* worden aangetast, ook de *iep* behoort.

Schwarz maakt de opmerking, dat de door *Graphium* veroorzaakte vaatziekte er anders uitziet dan de door *Verticillium alboatrum R. et B.* veroorzaakte „Diese (n.l. die *Graphium-*)krankheit ist von der von *V. alboatrum R. et B.* verursachten verschieden," schrijft zij. „In den von *Verticillium* erkrankten Stengeln findet man bisweilen das Innere der Gefässe mit dicken Hyphen und Chlamydosporen ausgefüllt." (27).

v. d. Meer vermeldt het voorkomen van *Verticillium dahliae* Kleb. in iep in Wageningen. (22). Daar trad de ziekte op in een proefveld, waar vroeger aardappels hadden gestaan. Zij noemt ook infectieproeven van Bewley, die jonge iepen met *Verticillium* infecteerde. (2). De behandelde boompjes bleven kleiner dan de onbehandelde, maar overigens traden geen uiterlijke ziekteverschijnselen op als gevolg van de infectie.

Stapp trof bij het controleeren van een jongen iep, dien hij met een bacterie van Brussoff had ingeënt, een aantasting door *Verticillium alboatrum* aan. (39).

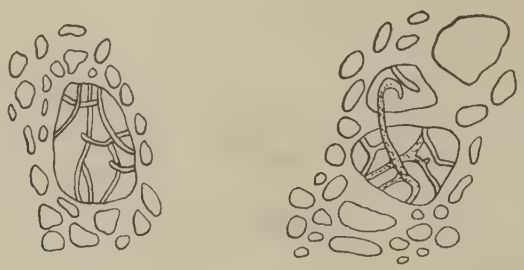
In een gedeelte van onzen proeftuin, waar vroeger aardappels hadden gestaan, trad *Verticillium* op in de iepen.

Nog werd ons uit Denemarken iepenhout gestuurd, dat bij onderzoek door *Verticillium* bleek te zijn aangetast.

We mogen dus aannemen, dat deze ziekte vrij algemeen verbreid is. In de praktijk is de *Verticillium* voor iepen niet zeer gevaarlijk, daar slechts jonge boomen er door worden aangetast en deze waarschijnlijk nog door de ziekte heengroeien. Bij navrage bleek de ouderdom van de *Verticillium*-zieke boom uit Denemarken vijf jaar te bedragen. Ook in alle andere gevallen ging het om jonge boomen.

Het beeld van de *Verticillium*ziekte lijkt veel op dat van de iepenziekte. De bovenste bladeren van den aangetasten boom beginnen te verdorren, en deze verdorring zet zich dan naar onderen voort. (Foto 7). Ook komen in het hout bruine verkleuringen voor. Dikwijls zijn deze verkleuringen wateriger

dan de door *Graphium* veroorzaakte en is al het hout meer egaal verkleurd, maar soms zijn de beide verkleuringen niet van elkaar te onderscheiden, daar door beide schimmels telkens onderbroken, niet altijd scherp van het omringende weefsel afgescheiden bruine verkleuringen worden teweeggebracht. Zoo had men ons ook de takken van den Deenschen iep, die door *Verticillium* bleek aangetast, gestuurd, in de meening, dat het een geval van echte iepenziekte betrof.



Teekening 2
Mycelium van Verticillium Dahliae in houtvaten van iep.
Vergroot 540 ×

Dikwijls moet men nagaan, welke schimmel na uitleggen in een petrischaal uit een zieken tak groeit om met zekerheid te kunnen zeggen, of deze tak door *Graphium* of door *Verticillium* is aangetast. (Foto 8). Zelfs het microscopisch bekijken van doorsneden geeft lang niet altijd antwoord op deze vraag. Wel is in sommige gevallen van *Verticillium*-aantasting (Teekening 2) het dikke *Verticillium*-mycelium gemakkelijk in de vaten waar te nemen, maar dit is lang niet altijd het geval. Welke factoren bij het al of niet gemakkelijk zichtbaar zijn van de hyphen een rol spelen, is niet bekend. Mede in verband met het moeilijke opsporen van *Graphium*-hyphen in door iepenziekte aangetaste vaten zij er hierop gewezen, dat in vele gevallen van *Verticillium*-aantasting het mycelium even moeilijk te vinden is.

Thyllen en de gomachtige substantie vinden we ook in *Verticillium*-zieke takken. Het maakt echter den indruk, alsof de *Verticillium*-aantasting in verschillende gevallen minder heftig is, waardoor minder gom en thyllen worden gevormd dan we bij *Graphium*-aantasting gewend zijn. Daardoor kan de verkleuring lichter worden. Houtparenchymcellen kunnen ook hier zijn aangetast.

Graphium treedt voornamelijk op bij 10—30 jaar oude, *Verticillium* daarentegen bij jongere boomen.

Bij het nemen van infectieproeven met *Graphium* op jonge boomen kan *Verticillium* echter heel lastig zijn. Verschillende van mijn infectieproeven verloren haar waarde, toen bleek, dat de in de buurt van de geïnfecteerde zaailingen staande, onbehandelde zaailingen aan de *Verticillium*-ziekte leden. Ofschoon de geïnfecteerde iepjes eerder ziekteverschijnselen vertoonden dan de niet behandelde, kon men niet met zekerheid zeggen of *Verticillium* ook

Foto 7.
Door Verticillium dahliae Kleb. aangetaste jonge iep.

mee daaraan schuld was. *Graphium* groeit heel vlug uit een tak na uitleggen op een voedingsbodem, terwijl dit bij *Verticillium* eenige weken kan duren. Is dus een tak door beide schimmels aangetast, dan heeft *Graphium* bij uitleggen een grooten voorsprong en men zal geen *Verticillium* in zijn cultures terugvinden.

Uit de litteratuur blijkt, dat zoowel *Verticillium alboatrum R.* et *B.* als *Verticillium dahliae* Kleb. worden opgegeven als voorkomende in iep.

Het verschil tusschen beide soorten is voornamelijk in de sklerotien gelegen. De door mij geïsoleerde stammen bezitten sklerotien, die volkomen overeenkomen met de sklerotien van *Verticillium dahliae,* zooals die door Klebahn (18) en v. d. Meer (21) zijn beschreven.

Daar nog geen positieve resultaten verkregen waren bij infectieproeven met *Verticillium* in iepen, infecteerde ik enkele afleggers met deze schimmel, door ze betrekkelijk dicht bij den grond rondom in te spuiten met een sporenemulsie (15/6/28).

Tengevolge van deze infectie ontstond een bruine verkleuring in het hout. Deze verkleuring bepaalde zich echter tot den houtvatenring, waarin de infectie had plaats gehad. De na de infectie gevormde houtvaten zagen er gezond uit, zoodat bij dwarsdoorsnede van het stammetje slechts een smalle bruine ring te zien was. (Verg. foto 9 B, stuk van een 15/6/28 geïnfecteerde zaailing, genomen meer dan 1 M. boven de infectieplaats, afgesneden 4/12/28).

Enkele boompjes lieten ± 8 dagen na de infectie even de bovenste bladeren slap hangen. Dit herstelde zich spoedig, nieuw hout werd gevormd en de watervoorziening was daarna blijkbaar voldoende.

Bij verdere infectieproeven zal het de voorkeur verdienen, de wortels iets te beschadigen en met een sporenemulsie te besproeien, daar de infectie dan waarschijnlijk in meerdere houtlagen zal plaats vinden.

De *Verticilliumziekte* geeft, als vaatziekte, een beeld dat veel overeenkomst vertoont met dat van de echte iepenziekte. In tegenstelling met *Graphium* echter dringt *Verticillium,* zooals bekend is, door de wortels naar binnen.

Ik nam deze ziekte slechts waar bij *U. campestris latifolia.*

HOOFDSTUK II

Een bacterie-aantasting van iepenhoutvaten

§ 1. *Uiterlijk van de houtverkleuring*

Gelijk bekend heeft Brussoff trachten te bewijzen, dat de iepenziekte veroorzaakt wordt door een door hem benoemde bacterie, de *Micrococcus ulmi.* (4). Al zijn argumenten zijn door Stapp (32, 39) echter afdoende ontzenuwd, zoodat ik hier niet de bewijzen, die men tegen Brussoffs opvatting kan aanvoeren, nogmaals zal opnoemen. Stapp heeft op overtuigende wijze aangetoond, dat de bacterie van Brussoff met de echte iepenziekte niets te maken heeft.

Er bestaat evenwel een verschijnsel, dat door bacteriën wordt veroorzaakt en dat een zeer eigenaardige plaats inneemt onder de verschillende ziekten van den iep.

Toen ik in Grouw (Friesland) midden Juli 1927 toevallig eens enkele iepen aansneed, zag ik in de takken verschillende donkere strepen loopen. Deze strepen bevonden zich soms direct onder de schors, soms meer naar het midden van den tak. Ze waren een flink eind te vervolgen en hielden dan vrij plotseling op. Ik dacht niet anders dan dat ik met een pas begonnen *Graphium*-aantasting te maken had. Toen ik echter microscopisch coupes van de donkere verkleuring bekeek, zag ik, dat het in de aangetaste vaten wemelde van bacteriën.

Uit deze vaten stroomden ze in het water, waarin de coupes dreven. (Teekening 3 en 4).

Door middel van *carbolfuchsine* konden de bacteriën in de vaten zeer goed gekleurd worden. *Al dadelijk was uit te maken, dat ik niet met den Micrococcus van* Brussoff *te doen had. De bacteriën waren n.l. staafvormig en konden dus niet tot het geslacht Micrococcus behooren.* Bovendien zag Brussoff in zijn preparaten weinig „losse" bacteriën in de vaten, op zijn hoogst enkele schommelende kokken, terwijl ik er ontelbaar vele zag. Niet in alle gevallen zijn trouwens de staafjesbacteriën zoo bewegelijk. Soms maakt het den indruk, of ze in een soort vlies bij elkaar zitten.

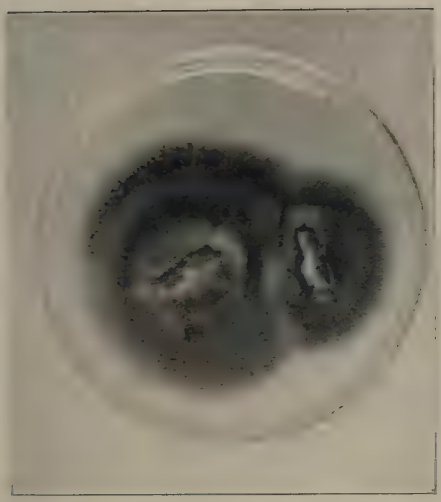


Foto 8.
Isolatie van Verticillium dahliae Klebahn uit takstukjes van iep.

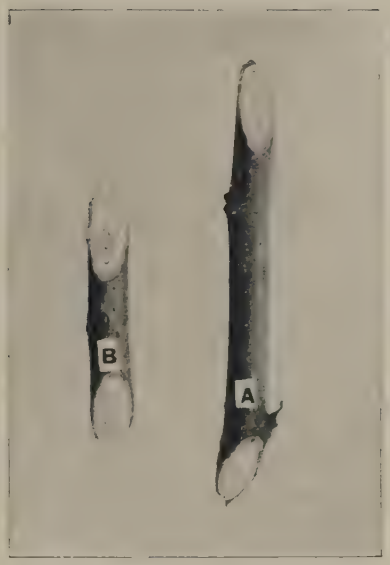


Foto 9.

A. stukje tak van aflegger 13—6—28 kunstmatig geïnfecteerd met Graphium ulmi. Afgesneden Nov. 1928. Afgebeeld stukje ligt meer dan 75 c.M. boven de infectieplaats.

B. stukje tak van aflegger 15—6—28 kunstmatig geïnfecteerd met Verticillium. Afgesneden 15—11—28. Afgebeeld stukje ligt meer dan 1 M. boven de infectieplaats. Veel nieuw hout is na de infectie gevormd.

In zijn laatste publicatie vermeldt Brussoff het voorkomen van een staafjesbacterie in vaten van aan iepenziekte lijdende boomen (10). Ofschoon Brussoff verder niet veel over deze staafjesbacterie zegt, laat hij de mogelijkheid open, dat het een voorjaarsvorm van *Micrococcus ulmi* zou zijn. Ik behoef er nauwelijks op te wijzen, dat ik dit voor uitgesloten houd.

Niet zoodra had ik deze met bacteriën gevulde vaten ééns gezien, of telkens en telkens stuitte ik er weer op. Na eenige oefening is het mogelijk, zonder behulp van een microscoop een bacterie-verkleuring van een *Graphium*-verkleuring te onderscheiden.

De voornaamste macroscopische verschillen tusschen een *Graphium*- en een bacterie-houtverkleuring zijn de volgende:

1. De *Graphium*-strepen zijn meestal bruin, de bacteriën-strepen zijn zwart.
2. De *Graphium*-strepen zijn niet doorloopend, maar telkens onderbroken. De bacteriën-strepen zijn altijd continu (Foto 10); soms splitsen zij zich in twee of meer afzonderlijke strepen.

Teekening 3 en 4
Bacteriën in houtvaten van iep.
Dwars- en lengtedoorsnede vergrooting 540 en 520 ×

3. De *Graphium*-strepen zijn niet scherp afgescheiden, de verkleuring vloeit als het ware door in het aangrenzende hout en geeft dit een eenigszins violette tint. De bacteriën-strepen zijn smaller en zeer scherp afgescheiden.
4. Door hun discontinuïteit zijn de *Graphium*-strepen moeilijk te vervolgen; de bacteriën-strepen zijn over het algemeen zeer gemakkelijk te vervolgen tot aan den oksel van een tak of tot in een bladsteel of zijn aanhechtingsplaats.
5. In jonge takken loopen de bacteriën-strepen vaak dicht langs het merg, wat van de *Graphium*-strepen niet kan worden gezegd.

Ook microscopisch zijn de verkleuringen verschillend. Niet alleen dat men bij *Graphium*-verkleuringen soms in de vaten mycelium vindt en dat bij bacteriën-verkleuringen in vele gevallen de vaten met bacteriën volgepropt zijn, ook in andere opzichten zijn verschilpunten waar te nemen. Zoo wordt het aan-

grenzende weefsel bij een *Graphium*-geval veel meer aangetast dan wanneer men met bacteriën te doen heeft. Dit heeft ten gevolge, dat de bacterie-strepen smal en scherp geteekend zijn.

Ofschoon bij een bacterie-aantasting ook de naast het betreffende vat gelegen vaten thyllenvorming vertoonen, treedt deze niet zoo op den voorgrond als bij *Graphium*-aantasting. Ook de gomachtige substantie, die we bij *Graphium*-gevallen in zoo groote hoeveelheid aanwezig zien, is minder, wanneer de verkleuring door bacteriën wordt veroorzaakt.

Het blijkt, dat deze door bacteriën teweeggebrachte verkleuringen voorkomen in boomen van alle leeftijden, zoowel in jonge, sterk groeiende loten als in oudere takken. We vinden ze in uiterlijk volkomen gezonde boomen, doch ook in sterk en duidelijk zichtbaar door *Graphium* aangetaste boomen.

Oorspronkelijk meende ik, dat de boomen tengevolge van deze aantasting tamelijk veel blad konden verliezen en dat het dun in blad staan, wat we tegenwoordig bij zooveel iepen kunnen opmerken, grootendeels aan de werking van deze bacterie was toe te schrijven. Later ben ik op deze meening geheel teruggekomen. Bij nauwkeurig onderzoek van boomen met weinig en met veel bladeren bleek mij, dat aan het uiterlijk van een boom niet te zeggen valt, of er al dan niet veel bacteriën-aantastingen in voorkomen. Sommige iepen, die dik in hun blad stonden, bleken verscheidene bacterievaten te hebben, terwijl andere, die er zeer mager uitzagen, weinig of geen bacterie-vaten opleverden. De dunne, ziekelijk er uitziende boomen zijn echter gewoonlijk door *Graphium* aangetast. (Slepend stadium).

Niet alleen in verschillende deelen van ons land, ook in Engeland trof ik in de iepen deze bacterie-aantasting aan. Ook in enkele takjes uit Zweden en Denemarken, die mij echter in tamelijk uitgedroogden toestand bereikten, deed zich deze aantasting voor. Dr. Mary Wilson (37) geeft aan, dat het in Noord-Engeland voorkomt, nadat ze kennis genomen had van mijn publicatie, waarin ik deze aantasting voorloopig heb beschreven (11).

In verschillende iepensoorten komt dit verschijnsel voor: voornamelijk in *U. campestris latifolia,* verder vond ik ze in: *U. campestris monumentalis, U. c. van Houttei, U. montana* en in een *Zelkova*soort.

Nooit heb ik echter een tak aangetroffen, die alleen tengevolge van een aantasting door deze bacteriën verdorde bladeren had of kaal was. Van een eigenlijke ziekte kunnen we hierbij dan ook niet spreken. Het voornaamste belang van deze bacterie in dit verband is, dat het mogelijk is, dat men een boom, die tengevolge van bacteriën-aantasting verkleurde vaten heeft, voor *Graphium*-ziek houdt, wanneer men bij het afsnijden van de takken deze verkleuringen in het oog krijgt. Dat dit tot verkeerde conclusies aanleiding kan geven, ligt voor de hand. De bewuste boom wordt als iepenziek beschouwd, en als na langen tijd nog geen verdorren van de bladeren optreedt, houdt men den boom voor genezen of de iepenziekte voor ongevaarlijk in bepaalde gevallen. Zoo komen verkeerde voorstellingen in de wereld. Waar over de iepenziekte zooveel wanbegrippen heerschen, die zoo moeilijk worden uitgeroeid, is het goed er eens op te wijzen, hoe deze kunnen ontstaan.

§ 2. *Isolatie en beschrijving van de bacterie*

Direct nadat ik deze bacterie in de vaten had gevonden, trachtte ik haar in cultuur te brengen. Schudde ik een stukje hout, genomen uit een uitwendig gedesinfecteerd takje, waarin bacteriën voorkwamen, met vloeibaar gemaakten agar en goot ik dien agar dan uit in een petrischaal, (een zeer gewone wijze om bacteriën te isoleeren), dan gelukte het niet de bacteriën te doen groeien. Op de aldus uitgegoten voedingsbodems ontstonden geen bacteriekolonies.

Dit gelukte wel, wanneer ik een door bacteriën aangetasten tak uitwendig desinfecteerde, hem schilde en opengespleten op een voedingsbodem legde, zóó, dat de met bacteriën gevulde vaten over een tamelijk groote lengte direct met dien voedingsbodem in aanraking kwamen. Dit was dus dezelfde methode, die ik ook bij isolaties uit echte iepenzieke takken toepaste. Bij zorgvuldig desinfecteeren van den aangetasten tak krijgt men op deze wijze dadelijk een reincultuur.

Slechts dan zijn de bacteriën gemakkelijk te isoleeren, wanneer ze in de vaten nog zeer bewegelijk zijn. Hebben ze zich reeds tot een vlies vereenigd, dan groeien ze niet meer uit op den agar.

Een beschrijving van deze bacterie volgt hieronder. (Teekening 5).

Teekening 5

Diagnose van de bacterie

Staafje met één of meer polaire ciliën. Gram-negatief zonder sporevorming, met geprononceerd oxydatieve stofwisseling, zonder groote neiging tot zuurproductie in media met alcoholen. Behoort tot het geslacht *Pseudomonas*.

De volgende kenmerken kunnen nog vermeld worden:

Gelatine wordt niet vervloeid.

Moutgelatine-streepcultuur geelachtig wit.

Mout- en wortelagar-streepcultuur melkachtig wit met gegolfden kleurloozen rand.

Zwak alkalische bouillon troebel met dun vliesje.

In lakmoesmelk geen stremming en geen zuurvorming.

Aardappel: geelgrijze, tamelijk dikke groei.

Indol wordt in tryptophaanmedium niet gevormd.

Nitraten worden *niet* gereduceerd.

Zetmeel wordt zwak gehydrolyseerd.

Glucose wordt niet vergist.

Afmetingen van de staafjes zeer variabel. Op dezelfde jonge peptonagarplaat komen staafjes voor van 2—2,5 μ (gemeten nà kleuring) en zeer lange draden.

Optimum-temperatuur ± 25° C.

Komt voor in houtvaten van verschillende iepensoorten.

Bij den tegenwoordigen stand van de bacteriën-systematiek is het vrijwel onmogelijk om uit te maken, of we hier met een nieuwe bacterie-soort hebben te maken of niet. Daar echter nog geen bacterie is beschreven, die een verkleuring in het iepenhout veroorzaakt, stel ik voor haar *Pseudomonas lignicola* n. sp. te noemen.

Beschreibung des Ulmenbakteriums

Stäbchenbakterien, mit einer oder mehreren polaren Zilien, ohne Sporenbildung, mit deutlich oxydativem Stoffwechsel ohne grosse Neigung zur Bildung von Säuren in alkoholischen Nährböden, Gramnegativ, einzeln oder in kurzen Ketten. Gehört zum Genus *Pseudomonas.*

Gelatine wird nicht verflüssigt.

Strichkultur auf Bierwürze-Gelatine gelblich weiss.

Strichkultur auf Bierwürze- und Möhren-Agar milchweiss, mit farblosem gekräuseltem Rand.

Alkalische Fleischbrühe wird trübe, und es bildet sich ein dünnes Kahmhäutchen.

Lackmus-Milch wird nicht koaguliert und es tritt keine Säurebildung darin auf.

Auf Kartoffel ist das Wachstum gelblich grau und ziemlich dick. Indol bildet sich nicht.

Nitrate werden nicht reduziert.

Stärke wird ein wenig hydrolysiert.

Glukose wird nicht vergoren.

Grösse der Stäbchen äusserst variabel.

Optimum-Temperatur ± 25° C.

Vorkommend in Ulmen-Holzgefässen, die infolge des Befalls schwarz aussehen.

Weil die Systematiek der Bakterien gar nicht klar ist, ist es schwer zu entscheiden ob hier eine neue Spezies vorliegt. Da bisher aber noch kein Bak-

---

Samenstelling van de gebruikte voedingsbodems.

Moutgelatine:	moutextract	250 gr.	(suiker 14 %)
	water	750 gr.	
	gelatine	200 gr.	
Moutagar:	moutextract	250 gr.	
	water	750 gr.	
	agar	20 gr.	
	Geneutraliseerd met K O H.		
Worteldecoct-agar:	wortels	1 Kilo	
	water	1 L.	

Koken, wortels stukwrijven. Aftrekken 30 minuten, zeven, extract op 1 L. brengen.

decoct	500 gr.	
water	500 gr.	
agar	15 gr.	

terium bekannt ist dasz in Ulmen-Holzgefässen lebt, möchte ich dennoch den Namen *Pseudomonas lignicola* vorschlagen.

§ 3. *Infectieproeven*

Daar ik deze bacteriën zoo uiterst veelvuldig aantrof, was het noodig, een groot aantal infectieproeven te nemen, ten einde nauwkeurig haar invloed op de iepen na te gaan. Zeer veel van deze infectieproeven werden zoo opgezet, dat de uitwerking van deze bacterie met die van *Graphium* vergeleken kon worden.

Daar door die proeven gebleken is, dat de bacterie geen schade aan de iepen toebrengt, zal ik ze niet alle uitvoerig vermelden. In hoofdzaak paste ik dezelfde wijzen van infectie toe, die ik reeds in het hoofdstuk over Graphium heb genoemd.

Een kort overzicht volgt hieronder.

Voor het verkrijgen van een bacteriesuspensie nam ik meestal een cultuur van de bacterie in vloeibaren, alkalischen bouillon en verdunde die met water. In sommige gevallen schudde ik een agarcultuur met water. Voor het bespuiten van boomen of bloeiende takken gebruikte ik een vaporisateurtje, voor het inspuiten in takken bladlitteekens of wortels een injectiespuitje.

Het besproeien van geheele boomen met een bacterie-suspensie leverde geen resultaat op, evenmin als dat bij Graphium het geval was.

Bloeiende takken werden afgesneden en in de kas besproeid dagelijks van 13 tot 17/3/28. 26/3/28 werden ze bekeken. Op 133 bloemen kwamen toen 2 donkere verkleuringen voor, die van de bloem naar beneden liepen, één zeer klein en één 8½ m.M. lang, waarin zich bacteriën bevonden.

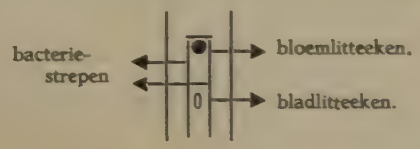
Afgesneden takken in de kas werden bespoten 16/3/28, bekeken 28/3/28. Op 62 bloemen kwamen 2 kleine verkleuringen met bacteriën voor.

Afgesneden takken, die buiten hebben gestaan en waarvan het juiste aantal bloemen niet bekend was, werden bespoten 16/3/28, bekeken 12/4/28. Toen kwam één verkleuring voor van 4½ m.M. lang, één van 3½ m.M. lang en een zeer kleine.

Het resultaat van de infectieproeven op onbeschadigde boomen en bloeitakken is dus al zeer gering.

Besproeien van bloeiende takken, waar voor het besproeien de bloemen waren afgetrokken, gaven volgende resultaten.

De tengevolge van de infectie ontstane donkere strepen bevonden zich dikwijls ter weerszijden van het bloemlitteeken, op de volgende wijze:



De dubbele getallen geven de maten van de beide „beenen" van de verkleuring aan.

Afgesneden takken (kas), waarvan eerst alle bloemen (71) zijn afgetrokken en die daarna van 13—17/3/28 dagelijks met een bacterie-suspensie zijn besproeid, werden bekeken 26 en 27/3/28.

Lengte van de ontstane verkleuringen bleken:
7—8, 10, 3½, 5, 38, 3—4½, 33—46, 2—3, 7½, 1½—1½, 7—69, 2—3½, 3, 2½—5½, 2—2, 2, 2½—85, 5, 7—18, 3, 3½, 3, 31—40, 13—14, 12½, 10—11, alles in millimeters, en 2 zeer kleine streepjes.

Altijd waren de bacteriën terug te vinden in de opgenoemde verkleuringen.

Afgesneden takken (kas), 16/3/28. 103 bloemen afgeplukt en dadelijk daarna bespoten met bacterie-suspensie. 28/3/28 bekeken.

Lengte verkleuringen:
12—20, 12, 40, 2, 43, 2—38, 67, 5, 2½, 5, 2—30, 3, 15, 18—22, 2½—3½, 24—42, 3, 10, 25, 2½, 2½—3½, 2½—5, 3½, 8½—43, 7½, 2—5, 10½—17, 14—20, 4—4, 1½—5, 2½—66, alles in millimeters, en 5 kleine verkleuringen.

Afgesneden takken (kas), waar 16/3/28, 154 bloemen waren afgeplukt en die 17/3/28 bespoten werden met bacteriën.

Lengte verkleuringen:
6, 1½—7, 14—16, 10, 5, 2 en 7 kleine verkleuringen.

Afgesneden takken, waar 19/3/28, 87 bloemen werden afgeplukt en die dadelijk met bacteri-suspensie zijn bespoten. De takken hebben buiten gestaan. Bekeken 11/4/28.

Lengte verkleuringen:
3, 3, 12, 9, 6½, 3, 5, 3½—5, 3½, 3½, 8½, 3½, 5, 4, 3, 2½, 7, 6, 5½, alles in millimeters.

Afgesneden takken, waar 19/3/28, 117 bloemen waren afgeplukt en die 21/3/28 bespoten zijn met bacteriën. De takken hebben buiten gestaan.

Lengte verkleuringen: 3, 2, 7, 4½, 3½, 4½, alles in millimeters.

Ofschoon proeven met afgesneden takken niet zooveel waarde hebben als proeven met takken, die nog aan den boom zitten, zien we er toch uit:

1. dat de bacterie weinig of niet door de intacte bloem naar binnen gaat;
2. dat de infecties in de kas beter doorloopen dan buiten;
3. dat na 1—2 dagen de litteekens grootendeels gesloten zijn en daardoor dan slechts weinig vatbaar zijn voor infectie.

29/3/28 besproeide ik een boom met bacteriën, nadat ik 252 bloemen had afgeplukt. Van een doorloopen van deze infectie heb ik nooit iets kunnen merken.

20/10/27 plukte ik van eenige takken de bladeren af, waarna ik op de litteekens een druppeltje bacterie-suspensie liet vallen. Op 21/2/28 werden eenige van deze takken nagezien. Het bleek, dat tengevolge van de infectie dikwijls een heel kleine donkere verkleuring ontstond, die zich meestal slechts tot aan het houtgedeelte van den tak uitstrekte. Van een positief resultaat kon dus in het geheel niet gesproken worden.

Ook spoot ik soms een bacterie-suspensie in de litteekens van de bladeren, die 't vorig jaar waren afgevallen.

5/4/28 injiceerde ik zoo de litteekens van verschillende takken. 5/6/28 werd een tak met 10 ingespoten litteekens gecontroleerd. Bij één knop was toen een donker streepje van 1½ c.M. lengte op te merken.

26/4/28 werden weer takken op deze wijze behandeld.

5/6/28 bekeek ik een tak met 8 ingespoten litteekens. Bij 4 knoppen was een donkere verkleuring enkele c.M. naar beneden te volgen.

Zeer veel takken spoot ik op verschillende plaatsen rondom in met bacteriën, zoodat ik dat ook bij *Graphium*-infecties heb beschreven. (Zie tabel VI). Infecties genomen in Februari '28 hadden geen resultaat.

TABEL VI

Iepesoort.	Infectiedatum.	Contrôle-datum.	Lengte langste verkleuring van de infectieplaats af.	
			NAAR BOVEN.	NAAR BENEDEN.
U. c. latifolia	27—7—27	26— 9—27	40 c.M.	40 c.M.
U. c. latifolia	22—8—27	13—12—27	—	28 c.M.
U. c. latifolia	10—9—27	18— 4—28	13½ c.M.	meer dan 17 c.M
U. camp. monum	26—4—28	5— 6—28	1,7 c.M.	2,9 c.M.
U. c. latifolia	26—5—28	5— 6—28	12 c.M.	in hoofdstam, kon niet worden gevolgd.

Opvallend is, vergeleken met de *Graphium*-infecties, dat de bacterie-verkleuringen verder naar beneden dan naar boven loopen, gerekend vanaf de plaats van infectie. Bij *Graphium* is dit veelal juist omgekeerd.

Ofschoon de infecties vooral in den zomer uitstekend doorliepen en dikwijls op eenigen afstand van de infectieplaats nog een kring van donkere stippen was waar te nemen bij het afsnijden van een geïnfecteerden tak, *was uiterlijk aan een tak nooit iets te zien, wat ook maar op verdorren van de bladeren geleek, wanneer in de vaten slechts bacteriën voorkwamen.* Wel werden in den herfst van 1927 de bladeren aan enkele takken van *U. camp. monumentalis,* die met bacteriën waren geïnfecteerd, eerder geel dan de andere bladeren. In den herfst van 1928 deed zich dat verschijnsel echter niet voor, toen verschilden de geïnfecteerde takken in geen enkel opzicht van de niet-geïnfecteerde. In 1928 had ik echter tamelijk vroeg in het jaar (Juni, Juli) geïnfecteerd, zoodat zich na de infectie nog nieuwe houtvaten konden vormen. Daaruit kan verklaard worden, dat toen de geïnfecteerde takken in den herfst het te vroege geel worden niet vertoonden.

Uit verschillende ingespoten takken werd de bacterie teruggeïsoleerd.

Uit enkele infectieproeven op wortels blijkt, dat de bacterie in wortels kan groeien, zonder daarin ver door te loopen. Bij een wortel, dien ik begin Augustus '27 inspoot, was 13/9/27 de infectie naar boven minstens 2 c.M. naar beneden meer dan 10 c.M. doorgeloopen. Een andere, 5/8/27 met bacteriën geïnfecteerde en 24/11/27 geoogste wortel, had een verkleuring tot 5½ c.M. beneden de infectieplaats. Naar boven was de lengte van de verkleuring niet nauwkeurig op te geven, aangezien de wortel daar spoedig in den stomp verdween en de verkleurde strepen daarin uiterst moeilijk te vervolgen waren.

§ 4. *Bespreking infectieproeven*

Uit de proeven blijkt, dat de beste tijd om met de bacterie te infecteeren de zomer is.

De eerste spontane bacterie-aantasting in hout van 1928 vond ik 26/6/28. Het is dus in hooge mate waarschijnlijk, dat de infecties in de zomermaanden plaats hebben.

Hoewel we in de natuur kunnen zien, dat de infectie door middel van de bladeren kan plaats hebben, daar men vanuit een bladnerf dikwijls de verkleuring naar beneden in bladsteel en tak kan vervolgen, is het in geen enkel geval gelukt door bespuiten van een boom met een bacterie-suspensie een indringen van de bacterie te doen plaats hebben. Waarschijnlijk zijn de omstandigheden tijdens het nemen van die proeven niet gunstig geweest.

Waren de bacterie-strepen niet zoo duidelijk en scherp begrensd, dan zouden we ook hier de plaats van infectie in het midden moeten laten. Ik wijs er daarom hier nog eens op, dat het feit, dat we bij het bespuiten van boomen met *Graphium*-sporen geen infectie krijgen er nog geen bewijs voor is, dat *Graphium* niet door de bladeren naar binnen komt.

§ 5. *Infectieproeven op andere boomen*

Dat de iepenbacterie ook wel in andere houtsoorten wil groeien, volgt uit onderstaande tabel.

De takken werden hierbij weer rondom ingespoten met een bacterie-suspensie. Verschijnselen van verdorren van de bladeren traden *niet* op.

Bij andere boomen, zooals eschdoorn, beuk en populier zijn de resultaten minder duidelijk. Bij eschdoorn ontstond een korte, inktzwarte, soms groenachtige of bruinachtige verkleuring, waarin de bacteriën nog te zien waren. Beuk en populier vertoonen, waarschijnlijk grootendeels als gevolg van de prikwond, een lichte verkleuring, waarin geen bacteriën meer te zien zijn.

Foto 10.

Door bacteriën-aantasting ontstane donkere strepen in iepentakken.

Foto 11.

Diaporthe sp., groeiend op iepentak en op lupinenstengel, in cultuur. De uitstekende „borsteltjes" zijn halzen van peritheciën.

TABEL VII

Boomsoort.	Datum infectie.	Datum controle.	Lengte langste verkleuring gerekend van infectieplaats af.	
			NAAR BOVEN.	NAAR BENEDEN.
Tilia euchlora	26—8—27	13—9—27	9 c.M.	$9^1/_2$ c.M.
Tilia mongolica	26—8—27	13—9—27	5 c.M.	$9^1/_2$ c.M.
Tilia cordata	26—8—27	20—2—28	$6^1/_2$ c.M.	$5^1/_2$ c.M.
Tilia cordata	26—8—27	20—2—28	4 c.M.	6 c.M.
Crataegus oxyacantha	9—11—27	27—4—28	Bacterie teruggeïsoleerd uit een takstuk, gelegen tusschen 12 en 15 c.M. van de infectieplaats.	
Robinia pseudacacia	26—5—28	5—6—28	10 c.M.	24 c.M.

HOOFDSTUK III

Taksterven veroorzaakt door Diaporthe sp. (Phomopsis)

§ 1. *Ziektesymptomen*

Wanneer in het voorjaar de iepen beginnen uit te loopen, kan het gebeuren, dat aan enkele takken de bovenste knoppen gesloten blijven. In andere gevallen loopen deze knoppen nog wel uit, maar dadelijk daarna verdorren de nog zeer kleine blaadjes. (Foto 12 en 13). Ook nadat de boomen al goed en wel in blad staan, is dit verschijnsel op te merken. Plotseling ziet men dan, dat de bladeren van verschillende kleine takjes slap naar beneden hangen. (Foto 15). Weldra worden deze bladeren bruin en verdorren. In het algemeen zijn het kleine takjes, die op deze manier ten gronde gaan. Bij een tak van de grootte als op foto No. 14 zal men het slechts zelden kunnen opmerken. Ofschoon tot diep in den herfst dergelijke verdorde topjes aan verschillende boomen voorkomen, zijn ze toch het meest opvallend in het voorjaar. Aan sommige op deze wijze aangetaste topjes verdorren de bladeren niet, maar nemen zeer vroeg een herfstkleur aan, in dit geval een roseroode kleur, die men in normale gevallen vrijwel nooit ziet. Eigenaardig is, dat dit afsterven van kleine topjes voornamelijk te zien is bij beschaduwde takken. Boven in den kop van de boomen, waar de takken goed aan de zon zijn blootgesteld, zal men het niet vinden. Is de top niet aan de zon blootgesteld, maar beschaduwd, dan komen de verdorde takjes ook daarin voor. Dit is b.v. duidelijk te zien bij de door oudere boomen beschaduwde iepen aan den Ouden Scheveningschen Weg. Het verschijnsel is niet van ernstigen aard. Slechts in enkele gevallen wordt een boom door de vele doode takjes bepaald ontsierd. Bij *U. campestris monumentalis* heb ik deze ziekte niet opgemerkt.

Nieuw is deze ziekte geenszins, reeds O u d e m a n s bericht erover in het Kruidkundig Archief van 1885 (24).

Hij noemt als oorzaak van het sterven *Discella Ulmi.* S a c c a r d o heeft deze schimmel later in het geslacht *Myxosporium* opgenomen, zoodat zij nu *Myxosporium ulmi (Oud) Sacc.* heet.

Klaarblijkelijk wordt hier dezelfde ziekte bedoeld, die ik boven heb beschreven. (Zie citaat van O u d e m a n s op blz. 61).

Foto 12.

Jonge takken aangetast door Diaporte sp.
De bovenste bladeren loopen niet of nauwelijks uit.

Daar Oudemans echter geen kweek- en infectieproeven had gedaan, was het wenschelijk, dit taksterven nogmaals te bestudeeren. Wil men nagaan, wat de oorzaak van deze ziekte zou kunnen zijn, dan vallen twee verschillende verschijnselen al dadelijk in het oog. Dikwijls bevindt zich onder het verdorde takje een kanker. (Foto 13). In vele andere gevallen echter is van een kanker niets te bespeuren, maar is een bepaalde plek aan te wijzen, die zich meestal slechts over één internodium uitstrekt, waar de schors bij aansnijden bruin blijkt te zijn. Maakt men dwarscoupes van dit zieke internodium, dan ziet men bij microscopisch bekijken in de schors zeer veel schimmeldraden. Deze draden zijn uiterst ongelijk van dikte. Soms loopen ze niet alleen in de schors, maar in de houtvaten of zelfs in het merg van het aangetaste internodium.

De kankers zijn opgezwollen takgedeelten, waarover in de lengterichting een spleet loopt. Soms is deze spleet bijna niet zichtbaar en ziet de kanker er als het ware „dicht" uit, maar dikwijls, vooral bij groote kankers, is het een gapende opening, waardoor het hout bloot komt te liggen. Door de woekering van het binnenste weefsel springt de kurklaag, wanneer een kanker gevormd wordt.

De oorzaak van het ontstaan van deze kankers is een houtaantasting. Bij lengtedoorsnede blijkt een donkere streep door het hout te loopen, voor zoover de kanker zich uitstrekt. Op dwarsdoorsnede is te zien, dat deze verkleuring een grootere of kleinere sector van den tak kan omvatten.

Microscopisch is in de donkere streep gemakkelijk mycelium waar te nemen. Bij jonge aantastingen is zij smal. Er ontstaat buiten de verkleurde sreep een onregelmatig parenchym en daarop weer hout. Door optreden van spleten wordt dit weefsel verscheurd en de bruine streep komt dan direct met de lucht in aanraking. Het onderliggende hout wordt ook bruin, terwijl de myceliumdraden dan tot in het merg zichtbaar zijn.

Terloops zij opgemerkt, dat behalve de hier beschreven kankers er nog andere voorkomen bij iepen. Zoo vond ik verschillende kankerplekken met een ingezonken schors, waaruit een pycnidenzwam, een Phoma, geïsoleerd kon worden. Met deze zwam heb ik verder nog niet geëxperimenteerd, daar dit type van kanker slechts zelden voorkomt, terwijl het andere zeer algemeen is.

§ 2. *Kweekproeven*

Desinfecteert men uitwendig een kanker of een ziek internodium door dit eenige minuten met $^1/_{10}$ % sublimaatoplossing te schudden en legt men ze daarna uit in een petrischaal met mout- of kersagar, dan groeit er in beide gevallen eenzelfde schimmel uit, die tot het geslacht *Diaporthe* blijkt te behooren. Het verdient de voorkeur om van jonge kankers uit te gaan. Is de kanker namelijk al oud, dan isoleert men ook andere organismen, die blijkbaar secundair op de aangetaste plek zijn gaan groeien.

Ook bij jonge kankers kan men hiervan last hebben, maar natuurlijk minder dan bij oude.

Oorspronkelijk meende ik, dat de bewuste schimmel tot het geslacht *Phomopsis* behoorde. Pas later vond ik in vele cultures van verschillende isolaties naast de pycnidensporen peritheciën met ascosporen van *Diaporthe*. Zooals men weet zijn er verschillende *Diaporthe*-soorten bekend, waarbij als „imperfecte" vorm soorten van *Phomopsis* optreden.

In de natuur heb ik den ascusvorm nooit aangetroffen.

De beschrijving van deze *Diaporthe* berust op wat ik daarvan in cultuur heb gezien. In vele opzichten is dit nog onvolledig. Zoo ontbrak mij de tijd, uit de *Diaporthe*-ascosporen den *Phomopsis*-vorm weer terug te kweeken, zoodat strikt genomen niet is bewezen, dat deze twee sporevormen inderdaad tot den cyclus van één schimmel behooren. Waar echter *Diaporthe*-peritheciën in verschillende van mijn isolaties optraden, beschouw ik voorloopig *Diaporthe* als ascusvorm van de *Phomopsis*, die ik uit de aangetaste internodiën van zieke iepentakjes en uit kankers isoleerde.

Verschillende *Diaporthe's* zijn reeds beschreven, die afkomstig zijn van iepentakken. Voorzoover ik kan nagaan, is er hierbij echter geen enkele, die een ziekteverschijnsel veroorzaakt. Het meest gelijkt de door mij in cultuur genomen *Diaporthe* op *D. Eres* Nitschke (23). Dit is ook de eenige *Diaporthe* op iep, waarvan de z.g. stylosporen of *β*.sporen worden beschreven (ofschoon in Rab. Kryptogamenflora dit niet is overgenomen, zoodat daar de stylosporen ontbreken in de beschrijving van *D. Eres)*. De eenige wezenlijke punten, waarin mijn beschrijving van die van Nitschke afwijkt, zijn de lengte van de stylosporen en het voorkomen van kleine uitsteeksels aan de ascosporen. De stylosporen zijn echter zeer verschillend van lengte, terwijl de uitsteeksels aan de ascosporen slechts moeilijk zichtbaar zijn. Het is dan ook niet gemakkelijk alsnog uit te maken of Nitschke's *Diaporthe Eres*, die hij op oude iepentakken vond, welke als steun dienden voor klimmende planten in den Hortus te München, misschien dezelfde is als degene, die het boven beschreven taksterven kan veroorzaken.

Mijne cultures kan ik als volgt beschrijven:

*Diaporthe*vorm. Het voorkomen van peritheciën is te zien aan de naar buiten uitstekende, tot ½ c.M. lange, dunne, „gegolfde" zwarte ostiola. Deze ostiola staan soms dicht opeen, waardoor de tak er ruig uitziet; soms vindt men ze in bosjes bij elkaar of hier en daar verspreid. Op lupinenstengel komen ze vooral in bosjes voor. Slechts in een gedeelte van de isolaties zijn de zwarte „borsteltjes", de ostiola, en dus de periheciën te vinden. (Foto 11).

Maakt men een dwarscoupe van een gesteriliseerden iepentak, waarop deze ostiola voorkomen, dan vindt men de kleine (± 300—500 *μ*.) ronde, soms meer polygonale peritheciën in de schors, eenige bij elkaar. Volgens Nitschke zitten de peritheciën van *D. Eres* in het hout, gedeeltelijk in hout en schors of alleen in de schors van de aangetaste takken. In mijn cultures zag ik de peritheciën slechts in de schors. Op eenige diepte in het hout wordt een zwarte streep gevormd, de grens van het stroma. Het hout zelf verandert niet. De asci zijn 8-sporig, ± 52 (45—57) *μ* lang en 6—8 *μ* breed. De ascosporen zijn 2-cellig, in het midden iets ingesnoerd, recht of

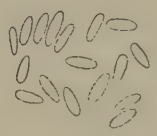
Foto 13.

Iepentakken met kankertjes.
De bovenste blaadjes zijn verdroogd.

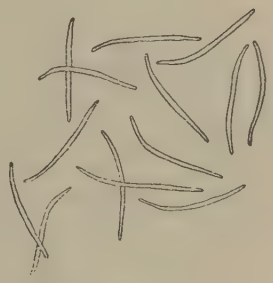
iets gekromd, aan de beide uiteinden van een puntig uitsteekseltje voorzien, ± 11.8 (10.5—14) μ lang en 3½ μ breed, hyalien, met 4 oliedruppels. (Teekening 6).

Phomopsis-pycniden zijn in het begin in alle isolaties aanwezig. Nadat ze eenige malen zijn overgeënt, verliezen sommige stammen echter het vermogen om deze pycnosporen te maken. Naast de gewone *Phomopsis*-sporen komen de z.g. stylosporen (β-sporen) voor, die van verschillende *Phomopsis*-soorten bekend zijn. De pycniden zijn zeer verschillend van grootte. Vaak vormt de schimmel eerst uitgroeisels van allerlei vorm en grootte, stromata, waaruit dan dikwijls de gele pycnidensporen-massa's te voorschijn komen. De pycnosporen zijn gemiddeld 7.1 μ lang en 2.4 μ breed en hebben dikwijls 2 oliedruppels. Ze zijn meestal stomp, soms aan één kant iets spits toeloopend. (Teekening 7).

Teekening 6.
Asci en sporen van
Diaporthe sp.
Vergroot 1220 ×



Teekening 7.
Phomopsis α-sporen
behoorende bij
Diaporthe sp.
Vergroot 1220 ×



Teekening 8.
Phomopsis β-sporen behoorende
bij Diaporthe sp.
Vergroot 1220 ×

De β.-sporen zijn onregelmatig van lengte (± 25 μ) en 1 μ breed. Ze zijn dikwijls iets sikkelvormig gebogen en dan aan het gebogen eind iets smaller toeloopend. Slechts een gedeelte van de isolaties heeft β-sporen, sommige weinig, andere veel. (Teekening 8).

Alle sporen zijn gemeten liggend in water. Op agar is het mycelium eerst wit, en kan later donker groenachtig of bruin getint worden. De schimmel vormt in een petrischaal dikwijls onregelmatige „schulpjes". Ook onregelmatige, dikke, zwarte strepen komen soms in de cultures voor. Lang zette ik de cultuur op agar niet voort, aangezien takschimmels veel beter op gesteriliseerden tak of stengel worden doorgekweekt. Op stengel treden veelal zwarte stromavlekken op.

Totdat ik de *Phomopsis*-sporen uit de ascosporen heb teruggekweekt, zou ik er nog niet toe willen overgaan deze *Diaporthe* nieuw te benoemen, te meer, omdat onder mijn isolaties verschillende typen voorkomen en ik met behulp van *één*-ascuscultures eerst wil nagaan, of deze constant zijn of in elkaar overgaan, om daarna een meer volledige beschrijving te kunnen geven.

§ 3. *Infectieproeven*

De infectieproeven, met deze *Diaporthe* genomen, hadden tot nu toe slechts een weinig bevredigend resultaat. Een taksterven, zooals we dat in de natuur aantreffen, werd nog niet na kunstmatige infectie verkregen. Brengt men de *Phomopsis*-sporen (met ascosporen heb ik nog niet geïnfecteerd!) in een snede in een iepentak, dan is het mogelijk na langen tijd (eenige maanden) de schimmel daaruit weer terug te isoleeren. De wond sluit zich echter gewoonlijk op dezelfde wijze als de ter contrôle gemaakte sneden, waarin geen sporen zijn gebracht.

Worden sporen op dezelfde wijze als boven beschreven is voor *Graphium*-sporen met behulp van een injectiespuitje in het hout gebracht, dan ontstaan donkere strepen, waaruit *Phomopsis* kan worden teruggeïsoleerd.

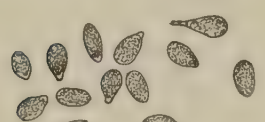
Begin November 1927 werden eenige internodiën zeer voorzichtig verwond en geïnfecteerd door er met een injectiespuitje op verschillende plaatsen eventjes in te prikken en dan de sporen in te spuiten. Ook werden eenige internodiën bestreken met een sporensuspensie. Dit laatste had geen resultaat. December 1928 werden 10 van de takken, waarin sporen waren gespoten, afgesneden. 5 gaven uiterlijk een negatief resultaat, ofschoon *Phomopsis* eruit teruggeïsoleerd kon worden. Van de 5 andere takken vertoonden 2 duidelijk kanker, 2 een opzwelling (in één geval zat deze opzwelling onder aan een zijtak vlak naast het beprikte internodium) en één een inzinking van de schors.

Voegt men hierbij nog het feit, dat spontaan vele kankers optraden aan de boomen, waarop deze proeven werden genomen, dan blijkt voldoende, dat het resultaat nog niet overtuigend is.

Aan verschillende dit jaar, 1928, in November geïnfecteerde takken zijn de sneden, die voorzien zijn met *Phomopsis*-sporen, nog open, terwijl de contrôlesneden zich gesloten hebben. Meer is daar nu nog niet van te zeggen.

§ 4. *Myxosporium ulmi (Oud.) Sacc. in verband met dit taksterven*

Een moeilijkheid, waarvoor ik bij dit *Diaporthe*-vraagstuk kwam te staan, was de volgende. In Juni, eenigen tijd nadat de *Diaporthe*aantasting duidelijk is opgetreden bij verschillende takjes, ziet men op de aangetaste internodiën „pustulae" te voorschijn komen. Deze worden gevormd door de typische sporen van *Myxosporium ulmi*. (Teekening 9).



Teekening 9.
Sporen van Myxosporium ulmi (Oud.) Sacc.
Vergroot 540 ×

Daardoor werd door Oudemans deze zwam voor de oorzaak van het taksterven gehouden (24). Daarom ben ik er ook van overtuigd, dat het door Oudemans waargenomen taksterven als verschijnsel identiek is met het zoo juist door mij beschrevene, alhoewel hij een andere zwam voor den verwekker houdt dan ik.

Oudemans geeft van schimmel en ziektebeeld de volgende beschrijving:

Foto 14.

Oudere tak door Diaporthe sp. aangetast.
Onder de verdorde bladeren is de tak dunner
door de schimmelaantasting.

„*Discella ulmi* Oudemans (Hedwigia 1883, p. 116) In ramorum sitaneorum internodiis ultimis Ulmi campestris. Haarlem et Lochem, m. Junio a° 1883 F. W. van Eeden.

„Pustalae plurimae gregarie crescentes superficiem occupant internodiorum ultimorum ramorum sitaneorum, talemque pressionem in periderma exercent ut hoc in vertice pustularum tali modo rumpatur quasi a Phacidio quodam emergente dilatatum fuisset. Perithecium nullum, sed ejus loco cavernulae biconvexiusculae inter peridermatis laminas, quarum paries inferior sterigmatibus obductus est.

„In ultimo evolutionis stadio cavernularum pars superior dilabitur, quo facto maculae lactei coloris, conidiorum agglomeratione ortae, oculos alliciunt. Sterigmata variae longitudinis, exilissima, coloris expertia, integra vel ramosa. Conidia coloris expertia, ovalia vel obovata, nonnumquam obliqua, 14—16 μ longa, 8—9 μ lata, protoplasmate exilissime-granuloso repleta.

„Eenige overeenkomst met onzen fungus heeft de conidiëndragende vorm van Cryptospora hypodermia Fuckel (Symb. Mycol. 192). De conidiën zijn hier echter 24 μ lang en 16 μ breed en dus ongeveer dubbel zoo groot als de onze.

„Hoewel ik op oudere internodia der zieke iepetakken Quaternaria dissepta aantrof, mocht ik toch niet aannemen, dat mijn Discella in den ontwikkelingsgang van dien fungus thuis zou behooren, omdat Tulasne voor eerst genoemde Pyrenomyceet in zijn Selecta fungorum Carpologia II 104, enkel het bestaan van spermatiën, maar niet van conidiën aanneemt. Het bezoek van *Discella ulmi* doet de pas uitgeloopen bladeren zeer spoedig verdorren en afvallen. Uit de verte zijn zulke zieke iepen dan ook van gezonde zeer gemakkelijk te onderscheiden."

Op een kanker heb ik *Myxosporium* nooit gezien, maar op de zieke internodiën ziet men de wit gekleurde sporenmassa's door den iepenbast heenbreken. Desinfecteert men zoo'n internodium, waar *Myxosporium* op zit en legt men het daarna uit op een voedingsbodem, dan isoleert men weer *Diaporthe*. Wanneer men al eens iets anders isoleert, dan is dat een gewone verontreiniging en blijkt, dat men niet grondig genoeg den tak heeft gedesinfecteerd. Het is dus aan te nemen dat *Diaporthe* diep in het takje is doorgedrongen en het afsterven heeft veroorzaakt.

Een *Myxosporium*-cultuur kon ik op deze wijze niet verkrijgen. Ook gelukte het niet de op den tak voorkomende *Myxosporium*-sporen tot kieming te brengen. Een reincultuur van *Myxosporium* is dus helaas nog niet in mijn bezit.

Het is niet waarschijnlijk, dat *Diaporthe* en *Myxosporium* vormen zijn van één en dezelfde schimmel. *Myxosporium* zal als een later ingedrongen saprophyt beschouwd moeten worden. Het zal wel mogelijk zijn, de sporen van *Myxosporium* op de een of andere wijze tot kieming te brengen. Ik heb dit onderzoek niet volledig kunnen voortzetten, omdat de *Myxosporium*-sporen te voorschijn komen in ongeveer denzelfden tijd, waarin ook de iepenziekte optreedt. Daar mijn werk hoofdzakelijk in de richting van de iepenziekte lag, kon ik mij in dien tijd niet op iets anders concentreeren. Later in den zomer

zijn de *Myxosporium*-pycniden leeg, zoodat er dan van kweekproeven niets meer kan komen.

§ 5. *Exosporium ulmi Eriksson als oorzaak van taksterven*

Het is misschien goed hier met enkele woorden te wijzen op een onderzoek van Eriksson van 1906 over een taksterfte van den iep (13).

Eriksson beschrijft een soortgelijk taksterven als het door *Diaporthe* veroorzaakte. Echter is het door hem beschreven verschijnsel blijkbaar van meer ernstigen aard. Terwijl het *Diaporthe*-sterven betrekkelijk onbelangrijk is, kan de door Eriksson genoemde ziekte, die voornamelijk ernstig wordt bij jonge iepen, den dood van deze boomen veroorzaken. Eriksson schrijft de ziekte toe aan de werking van een schimmel, de door hem beschreven *Exosporium ulmi*. Hij heeft deze schimmel niet in reincultuur gekweekt. Wel heeft hij infectieproeven genomen met in de natuur verzamelde sporen. Hij smeerde deze sporen op jonge takken. Na ± 10 maanden kreeg hij positieve resultaten met zijn infectieproeven.

Uit de beschrijving van Eriksson blijkt, dat de door hem beschreven ziekte verschillend is van het hier zoo algemeen voorkomende verdorren van kleine takjes. De ziekte van Eriksson heb ik hier nooit waargenomen.

Biourge doet een poging om deze *Exosporium* in zijn *Nectria-Graphium*-cyclus te betrekken. (3). De publicatie van Biourge wordt door Westerdijk in het literatuuroverzicht besproken.

§ 6. *Kanker van Ulmus americana, veroorzaakt door Sphaeropsis ulmicola E. et E.*

In 1920 werd door Hubert en Humphrey een taksterven van Ulmus americana beschreven, dat zijn oorzaak vond in een kankeraantasting door *Sphaeropsis ulmicola E. et E.* (17). De kanker strekt zich uit over groote gedeelten van den tak en uit zich vooral in het inzinken van de schors. Van de kleinere takken uit groeit hij door in de grootere en brengt deze eveneens tot afsterven.

In 1920 nam het verschijnsel sterk toe en nam bijna de afmetingen van een epidemie aan. Verschillende iepen werden er door gedood. Als maatregelen ter bestrijding worden genoemd zorgvuldig uitsnoeien van zieke takken, opruimen van zwaar aangetaste boomen en een zorgvuldige inspectie van de kweekerijen.

Infectieproeven zijn door Humbert en Humphrey niet verricht.

Uit de beschrijving blijkt wel, dat we hier met een ziekte te doen hebben, die in haar gevolgen veel ernstiger is dan de betrekkelijk onschuldige kanker, die in onze iepen voorkomt. De heer Humphrey stuurde ons eenige herbarium exemplaren van aangetaste takken en het was duidelijk, dat wij een dergelijk ziektebeeld in onze iepen niet kennen.

Foto 15.
Tak aangetast door Diaporthe sp.
De bladeren beginnen juist slap te hangen.

HOOFDSTUK IV

Sterven van iepen als gevolg van aantasting door Nectria cinnabarina (Tode) Harz

Deze ziekte komt betrekkelijk weinig voor en ik had er waarschijnlijk geen melding van gemaakt, als niet B i o u r g e door zijn publicatie er de aandacht op had gevestigd. (3)

Het is bekend, dat *Nectria cinnabarina* parasitisch op iepen kan voorkomen. Vooral bij verschillende tuinbouwvariëteiten, als den bonten iep, doet zich dit verschijnsel voor. De kop van den boom kan dan eerst afsterven, terwijl de ziekte naar beneden doorloopt.

In tegenstelling met de meeste *Graphium*-aantastingen is er een zeer scherpe scheiding tusschen het verdorde en het groene deel van den boom. Het zieke hout vertoont niet de bekende bruine vlekken, maar is egaal verkleurd. Bovendien kan men de rose sporenhoopjes in den zomer gemakkelijk op de zieke takken of stammen vinden. Daar *Nectria cinnabarina* ook dikwijls secundair optreedt bij iep, is het mogelijk, deze sporenhoopjes op door *Graphium* gedoode takken te vinden, wanneer deze takken al een tijdlang dood zijn. Op pas door *Graphium* aangetaste takken zal men ze echter niet zien.

Verdere onderzoekingen over dezen fungus en zijn parasitisme heb ik niet gedaan. Slechts kan ik nog vermelden, dat ik *Nectria cinnabarina* heb geïsoleerd uit takken, afkomstig uit Zweden. Deze takken werden mij gestuurd om uit te maken, of de betreffende boomen, die ziekteverschijnselen vertoonden, aan echte iepenziekte leden of niet. Daar ik geen *Graphium* kon constateeren, hoewel ik verschillende zendingen van takken kreeg, zullen de ziekteverschijnselen veroorzaakt zijn door deze *Nectria*.

HOOFDSTUK V

Pythium intermedium de Bary als parasiet van iepen

Hoe voorzichtig men moet zijn met het trekken van conclusies aangaande het doorloopen van kunstmatige infecties, kan uit het volgende blijken:

5/8/27 had ik een *U. campestris latifolia* in een van de wortels geïnfecteerd met de iepenbacterie.

24/11/27 rooide ik den boom, om na te zien, hoever de infectie was doorgeloopen. Aan één kant van den stam vond ik toen tot op een hoogte van meer dan ½ M. boven den grond zwarte strepen, vlak onder de schors, waarvan men zou kunnen denken, da ze een gevolg waren van de infectie. Op dwarsdoorsnede deden deze strepen zich voor als een zwart lijntje, bestaande uit een opeenvolging van zwarte stippen. Dit lijntje was ± 15 m.M. breed en liep naar boven toe smaller uit. Het bevond zich juist in de cambiumlaag. Iets dieper in het hout was nog een dergelijke verkleuring, die echter slechts ± 4 m.M. breed was.

Bij nauwkeurig volgen van het verloop van deze zwarte strepen bleek, dat ze haar oorsprong vonden in een anderen wortel dan dien, welken ik had geïnfecteerd. Ze waren dus spontaan ontstaan en hadden niets te maken met de kunstmatige bacterie-infectie.

Onder het microscoop was in deze verkleuring in enkele gevallen een zeer grof mycelium te vinden, dat aan het mycelium van een Phycomyceet deed denken. Dit mycelium kwam echter slechts weinig voor in het aangetaste weefsel. Het bleek verder, dat voornamelijk de cambiumstreek met de aan weerszijden daarvan liggende schors- en houtparenchymcellen groenachtigbruin was gekleurd. Dikwijls waren de loodrecht daarop staande mergstralen niet aangetast. De houtvaten, die op eenigen afstand van het cambium lagen, hadden dikwijls een lichtbruinen wand en waren vaak met thyllen of een lichtbruine substantie opgevuld, terwijl de er onmiddellijk omheen liggende houtparenchymcellen soms eveneens dezelfde kleur hadden aangenomen.

Bij de dieper in het hout liggende aantasting was één rij houtvaten met

verschillende rijen parenchymcellen donkerbruin gekleurd. De op eenigen afstand hiervan gelegen houtvaten hadden een lichtbruine kleur.

De vraag was nu: wat is de oorzaak van deze zwarte verkleuring?

Ten einde dit te weten te komen, behandelde ik eenige stukjes hout met de verkleuring op de gewone manier, d.w.z. ik desinfecteerde ze uitwendig en legde ze uit op een voedingsbodem, kers- of havermoutagar. In enkele gevallen groeide er uit het hout niets, maar in andere schalen kwam *Pythium intermedium de Bary* te voorschijn! Ook bij een herhalen van dit uitleggen kwam weer òf niets òf *Pythium intermedium* voor den dag.

Ten einde na te gaan, of deze schimmel werkelijk pathogeen was voor iepen, zette ik eenige infectieproeven aan. Proeven in het begin van het jaar genomen met zaailingen, waar ik mycelium van *P. intermedium* bracht in een snijwond, gaven geen resultaat.

Daarna injiceerde ik 15/6/28 op de gewone manier door middel van een injectiespuitje een spren-suspensie in 6 jonge afleggers. Het bleek, dat al spoedig enkele c.M. rondom de infectieplaats de schors ging inzinken, waardoor een soort schorsbrand ontstond. Daarna liet de schors van het hout los. Vooral boven, maar ook eenigszins onder de „kankerplek" ontstond, doordat het transport door de schors gestoord was, een dikke wal. Naar het oordeel van Prof. Westerdijk gelijkt de zoo ontstane kanker zeer veel op een door *Phytophthora faberi* bij cacao veroorzaakte aantasting.

Een van de 15/6/28 geïnfecteerde afleggers werd 12/7/28 „geoogst" en vertoonde toen al een flinken kanker, tengevolge van de infectie. Behalve de kanker ontstonden naar boven en naar beneden zwarte strepen, die zich ver uitstrekten, veel verder dan de kanker zelf. Na uitleggen van deze zwarte verkleuring bleek het mogelijk, *Pythium intermedium* terug te isoleeren. Van de andere 5 afleggers had op 5/11/28 één geen gevolgen van de infectie ondervonden, terwijl de 4 andere flinke kankers hadden. Bij 3 van deze 4 was de aflegger boven de kankerplek afgestorven, terwijl de vierde nog geheel levend was.

Het eigenaardige geval deed zich dus voor, dat een typisch ziektebeeld ontstond, waar ik dit allerminst verwachtte. In de natuur heb ik nooit een dergelijken kanker spontaan zien optreden. Waar echter *Pythum intermedium* zeer verbreid is in den grond, is het van belang te weten, dat hij voor den iep pathogeen kan worden.

Gaarne spreek ik hier mijn hartelijken dank uit aan Prof. Joh. Westerdijk voor haar nooit verflauwende belangstelling in dit onderzoek en voor haar vele goede raadgevingen, die mij bij het uitvoeren van dit werk van zooveel waarde zijn geweest.

Baarn, Maart 1929.

Zusammenfassung

Diese Untersuchungen wurden von der „Nederlandsche Heide Maatschappij", aus dem Fonds „Oranjebond van Orde", veranstaltet.

Die Forstleute, Baumzüchter und andere praktischen Interessenten, glaubten nicht an die infektiöse Natur der verheerenden Ulmenkrankheit. Da die wissenschaftlichten Untersuchungen Anfang 1927 noch manche Lücken aufwiesen, wurde eine erneuerte Untersuchung veranlasst, Prof. Joha. Westerdijk damit beauftragt und die Versuche von Dr. Christine Buisman angestellt.

Die folgende Zusammenfassung der Resultate ist von Dr. C. Buisman verfasst worden. — Die Litteraturübersicht und allgemeine Erörterungen von Dr. Joha. Westerdijk sind nicht übersetzt.

Da die äusserlichen Symptome der Ulmenkrankheit schon mehrfach beschrieben worden sind (Schwarz (27), Spierenburg (29), Wollenweber und Stapp (39)), möchte ich in dieser Zusammenfassung besonders meine eigenen Versuche betonen.

I. Bekanntlich zeigt das Holz einer von der Ulmenkrankheit befallenen Ulme braune Verfärbungen. Die erkrankten Gefässe sind mit Thyllen und einer gummi-artigen Substanz ausgefüllt, deren Farbe von dunkelbraun bis rot oder gelb wechselt. Oft scheint diese Substanz aus sehr vielen kleinen Körnchen, die Bakterien sehr ähnlich sehen, zu bestehen. Dennoch bin ich wie Stapp (39) der Ansicht, dass es sich hier nicht um irgend einen Organismus handelt. In einigen Fällen war es möglich in den kranken Gefässen dünne Pilzhyphen nachzuweisen, obwohl es sehr schwierig ist diese aufzufinden. Wollenweber (39) stellte auch Sklerotien in den angegriffenen Gefässen fest, was mir bisher niemals gelungen ist.

II. Werden kleine Teile eines kranken Zweiges mit 0,1 % Sublimat desinfiziert, mit Wasser abgespült, mittels steriler Instrumente geschält und dann in eine Petrischale mit Nährboden gebracht, so wächst *stets* nur *ein* Pilz hervor, und zwar das Graphium ulmi Schwarz. Ich benutzte verschiedene Nährböden zum isolieren: Kirsch-, Bierwürze-, Fleischbrühe- und Hafermehlagar. Das Bierwürzeagar wurde auf verschiedenen PH gebracht. Trotzdem bekam ich immer nur Graphium ulmi. Aus Holz ohne die typischen Verfärbungen wuchs dieser Pilz niemals hervor.

Graphium ulmi ist von Schwarz (27) und Wollenweber (39) schon genau beschrieben worden.

III. *Künstliche Infektionsversuche.*

Als ich diese Untersuchungen in 1927 begann lagen noch keine einwandfreien positiven Ergebnisse künstlicher Infektionen vor. Ich war also bemüht, möglichst zahlreiche Infektionsversuche anzustellen, damit die Frage nach der Ursache der Ulmenkrankheit endgültig gelöst werden könnte.

Zuerst wurden die Ulmen, die der künstlichen Infektion dienen sollten, mit grosser Sorgfalt ausgesucht. In verschiedenen Baumschulen wurden von Prof. Westerdijk und mir Ulmenbestände geprüft und nur wo wir die Gewähr hatten dass es sich um vollkommen gesunde Bäume handelte, wurden sie angekauft und in unseren Versuchsgarten ausgepflanzt. Die meisten dieser Bäume (U. campestris latifolia und U. campestris monumentalis) waren ± 2—4 Jahre alt und schon einige Meter hoch. Auch Sämlinge dienten den Versuchen. Zur Impfung wurden verschiedene Graphium-Isolationen benutzt.

Die Infektionen wurden vorgenommen: März—November 1927 und Ende Februar—Oktober 1928, und zwar an verschiedenen Teilen der Bäume: an Blättern, Blüten, Blatt- und Blütennarben, Zweigen und Wurzeln.

Ich kam dann zu folgenden Ergebnissen:

Während des Sommers 1927 hatte ich keine völlig positiven Erfolge mit meinen Infektionen. Wohl entwickelte sich eine Gefässbräune in Streifen, aber äusserliche Krankheitssymptome traten nicht auf. Ich führe dieses darauf zurück, dass ich die Zweige nur einseitig in Längsschnitten infizierte. Im Sommer 1928, und zwar *von Anfang Juni bis Ende August,* hatte ich zahlreiche positive Erfolge. Die Blattdürre und das Absterben von Zweigen wurden wiederholt hervorgerufen und waren häufig zehn Tage nach der Infektion schon sichtbar. Ich führe das Gelingen auf die allseitige Infektion zurück. Die im September vorgenommenen Impfungen ergaben wohl eine Holzbräune, führten aber nicht mehr zu einer Welke.

Die verschiedenen Infektionsversuche hatten folgenden Verlauf:

Es gelang niemals die Krankheit nach Bespritzung eines unverletzten Baumes mit einer Sporenaufschwemmung hervorzurufen, obgleich ich dies von Mitte Juli—Mitte September 1928 wiederholt versuchte. Ebensowenig hatte eine Bepinselung der Blätter mit einer Sporensuspension am 1.6.27 Erfolg. Als ich aber zwei Zweige eines kleinen Exemplares von U. montana an verschiedenen Stellen verletzte und dann mit einer Sporenaufschwemmung bespritzte (8.10.28), konnte ich am 24.10.28 aus diesen Zweigen Graphium zurück isolieren, obwohl äusserliche Krankheitserscheinungen nicht auftraten.

Derartige Bespritzungen von Blütenzweigen hatten keinen nennenswerten Erfolg, auch nicht wenn die Blüten vorher abgerissen wurden.

Nach der Infektion von Blattnarben, die im Herbst 1927 und '28 geschah, indem ich auf die frischen Narben einen Tropfen der Sporen-

aufschwemmung fallen liess, traten keine längeren braunen Verfärbungen in den betreffenden Zweigen auf, obgleich es in einigen Fällen möglich war einige Wochen nach der Infektion Graphium aus den (äusserlich desinfizierten!) Zweigstücken zurück zu isolieren.

Am 8.10.28 wurden einige Zweige abgeschnitten und in die am Baum entstandenen Wundflächen eine Sporenaufschwemmung eingespritzt, ohne dass nennenswerte braune Verfärbungen auftraten.

Im Frühjahr 1927 und '28 infizierte ich einige Zweige in den Blattnarben oder in den Achseln zwischen Knospe und Zweig. Obwohl später oft Graphium zurück isoliert wurde, waren die Resultate dieser Versuche dennoch negativ, denn längere Verfärbungen oder späteres Welken der Blätter wurden in dieser Weise nicht hervorgerufen.

Vollkommen positive Erfolge hatte ich mit Infektionen an Zweigen, indem ich mit einer Spritze einen Kreis von Einstichen machte und zugleich die Sporen einspritzte. Ende August und September 1927 zeigten auf diese Weise infizierte Zweige zwar nicht mehr ein Welken der Blätter, sondern nur eine verfrühte Herbstfarbe. Als ich aber am 6.6.28 einige schon in September infizierte Zweige wiederum einspritzte, fingen am 15.6.28 die Blätter zu welken an und vertrockneten bald. Dieses Welken und Vertrocknen breitete sich nach unten aus und traf am 30.6.28 schon Zweige, die sich unter der Infektionsstelle befanden. Die Bilder 1 und 2 zeigen den Baum, woran diese Infektionen stattfanden. Sie wurden am 10.7.28 aufgenommen. Von ± Mitte Juli ab vertrockneten die noch grünen Blätter nicht mehr, die Krankheit schritt also äusserlich nicht weiter fort.

In dieser Weise infizierte ich zahlreiche Zweige. Die in Juni und Juli eingespritzten welkten sehr rasch, ± 14 Tage nach der Impfung. Die Ende August infizierten zeigten nur sehr langsam die Folgen der Infektion, während die Mitte September infizierten keine äusserlichen Zeichen der Erkrankung mehr ergaben. Auch an kleinen Ablegern und Sämlingen hatte ich mit dieser Infektionsmethode guten Erfolg.

Ausser an U. campestris latifolia und U. camp. monumentalis wurde die Blattdürre noch hervorgerufen an U. elliptica, während Infektionen vom 17.7.28 an U. Pitteursii und U. montana gigantea ohne Erfolg blieben. Die U. Pitteursii war aber eben verpflanzt worden und ich habe den Eindruck, dass eben verpflanzte Bäume weniger leicht künstlich infiziert werden können, ohne dass ich indes diese Behauptung mit Zahlen beweisen kann. Die 2-jährigen Sämlinge zeigten verschiedene Anfälligkeit. Von den 40 Exemplaren, die ich am 14. und 15. Aug. 1928 infizierte, waren am 30.10.28 3 schwer, 9 ziemlich stark, 14 mässig, 5 leicht und 3 sehr leicht erkrankt, 3 fast gesund und 3 gesund.

Wurzelinfektionen:

Am 6.6.28 wurden die Wurzeln zweier junger Ableger etwas verwundet und nachher mit Graphium-Sporenaufschwemmung begossen. Am 23.6.28 trat ein leichtes Welken der obersten Blätter ein. Die Bäumchen

haben sich später aber wieder einigermassen erholt. Am 5.8.27 wurde ein stark entwickelter 3-jähriger Ableger derart infiziert, dass ein unten dünn ausgezogenes Röhrchen mit Sporensuspension in eine Wurzel gesteckt und da längere Zeit belassen wurde. Am 10.9.27 wurde der Baum äusserlich krank. Beim Fällen wurde festgestellt, dass die Krankheit sich im ganzen Baum vorfand, sodass nicht mit Sicherheit behauptet werden konnte, dass nicht spontane Infektion dazugekommen war. Ein Monumentalis-Bäumchen wurde in derselben Weise am 20.7.28 infiziert. Der Baum wurde am 13.8.28 abgeschnitten, obwohl damals noch keine äusserlichen Krankheitserscheinungen sichtbar waren. Nach dem Abschneiden konnte eine braune Holzverfärbung nachgewiesen werden, die sich von der infizierten Wurzel einseitig am Stamm entlang bis in den Gipfel in einer Höhe von M. 3.45 ausgebreitet hatte. Aus dem Gipfel wurde Graphium zurück-isoliert.

Auf die Kontroll-Versuche brauche ich nicht näher einzugehen, es sei nur erwähnt, dass an Kontrollzweigen niemals Welken oder Vertrocknen der Blätter auftrat, ausser an den Bäumchen, die spontan von Verticillium aus dem Boden befallen wurden.

Da Brussoff behauptet, dass mehrere Baumarten für die „Ulmenkrankheit" anfällig seien, infizierte ich noch einige Zweige von verschiedenen Laubhölzern. Dabei hat es sich herausgestellt, dass Graphium ulmi in mehreren Hölzern wachsen kann und aus Zweigstücken in einiger Entfernung der Infektionsstelle zurück-isoliert werden kann. (Acer, Tilia, Aesculus, Quercus, Crataegus, Salix, Populus und Fagus). Diese Versuche wurden zwar meistens im Spätherbst angestellt, also nicht in der günstigsten Infektionszeit, aber auch einige sommerliche Infektionen ergaben nur braune Holzverfärbungen. Niemals trat ein Welken der Blätter als Folge der Graphium-Infektion auf. Ein spontanes Auftreten von Zweigdürre durch Graphium ulmi an irgendeinem Baum ausser der Ulme, habe ich niemals feststellen können.

IV. Die natürliche Infektion mit Graphium findet an den oberirdischen Teilen der Ulmen statt. Wenn man kranke Ulmen fällt, sind häufig der untere Stammteil und die Wurzeln noch ganz gesund. Dies deutet darauf hin, dass die Infektion nicht durch die Wurzeln stattfindet, obgleich es natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass in einigen wenigen Ausnahmefällen Sporen durch eine Wurzel eindringen. Aus meinen künstlichen Infektions-Versuchen geht hervor, dass ein Wachsen des Pilzes durch eine Wurzel in die oberirdischen Teile sehr gut möglich ist. Die Blüten- und Blattnarben kommen als Eingangspforten für die Sporen wohl kaum in Betracht, da aus den künstlichen Infektionen hervorgehet, dass sowohl März—April wie Oktober—November ungeeignete Zeitpunkte für die Infektion sind.

Es ist unwahrscheinlich, dass der Pilz durch grössere Wunden, wie sie z. B. beim Ausschneiden von Zweigen entstehen, eindringt. Geschnittene Bäume leiden nicht mehr unter der Krankheit als ungeschnittene,

und ich habe niemals den Anfang der Krankheit von einer Schnittwunde ausgehen sehen.

Da bleiben nur noch kleinere Oeffnungen, Insektenstiche, kleine mechanische Schädigungen, und die natürlichen „Oeffnungen" Stomata und Lentizellen übrig. Ich habe keine künstlichen Infektionen von einer Lentizelle ausgehend gemacht. Schwarz nahm das Eindringen des Pilzes durch die Stomata an: ich habe dieses nicht bestätigen können. Bei dem Bespritzen unverletzter Blätter mit Sporen kam keine Infektion zu Stande. Auch wäre da die Möglichkeit zur Infektion so gross, dass ein Erkranken einzelner Zweige kaum zu erklären wäre. Insektenstiche und kleinere Verwundungen durch Windschäden entstanden spielen also unsres Erachtens die Hauptrolle beim Zustandekommen der Infektion. Es handelt sich allerdings nur um Vermutungen, da es mir nie gelungen ist eine Eintrittstelle genau nachzuweisen. Sogar eben äusserlich erkrankte Zweige zeigen schon überall die braunen Verfärbungen, deren Ursprung sich dann nicht mehr nachweisen lässt. Wenn ich eine Verfärbung genau verfolgen konnte von der Stelle, wo sie aufhörte, bis in ein Blatt, so handelte es sich immer um eine Bakterien-Verfärbung (s.unten).

Bei der Verbreitung der Krankheit spielt wohl der Wind die grösste Rolle. Obwohl durch andere Ursachen vielleicht auch Infektionen entstehen können, deutet sowohl die plötzliche allgemeine Verbreitung, wie die Tatsache, dass besonders Bäume, die an windigen Strassenecken stehen, zuerst befallen werden, darauf hin, dass der Wind bei der Verbreitung der Sporen in erster Linie in Betracht kommt. Den Einwand, dass die Sporen eine schleimige Masse bilden, also nicht leicht vom Wind fortgeweht werden können, möchte ich mit der Bemerkung beseitigen, dass bekanntlich auch das Bakterium des Gelbrotzes der Hyazinthen durch den Wind verbreitet wird, und hier handelt es sich doch um einen ausserordentlich schleimigen Organismus.

Ist es möglich eine kranke Ulme zu heilen oder das Ulmensterben direkt zu bekämpfen?

Bis jetzt müssen wir diese Frage mit „nein" beantworten. Zwar ist von verschiedenen Seiten behauptet worden, man könne die Krankheit heilen oder ihr durch Anwendung bestimmter „Heilmittel", vorbeugen aber einwandfreie, erfolgreiche Versuche liegen auf diesem Gebiet nicht vor.

Bisweilen kann es möglich sein einen Baum, der eben erkrankt ist, wenigstens zeitweilig zu heilen, in dem man die kranken Zweige ausschneidet. Da aber Anfälligheit des Baumes für den Pilzbefall bestehen bleibt, handelt es sich, wenigstens in stark verseuchten Gegenden, wo die Bäume dauernd der Infektion ausgesetzt sind, nur um eine vorübergehende Genesung.

Das Vernichten von kranken Bäumen hat nur Zweck, wenn in dem betreffenden Gebiet die Krankheit nur sporadisch vorkommt. Als einzige Massnahme von der wir uns Resultate versprechen, bleibt nur das Auf-

finden immuner Sorten oder Individuen übrig. Da man die Krankheit jetzt leicht künstlich hervorrufen kann ist es möglich verschiedene Individuen von mehreren Arten wiederholt auf ihre Anfälligkeit zu prüfen. Liegt einmal ein widerstandsfähiges Exemplar vor, so lässt sich dieses auf vegetativem Wege sehr schnell vermehren.

DIE VERTICILLIUM-KRANKHEIT DER ULMEN

Schon mehrere Forscher (Bewley (2), v. d. Meer (22), Schwarz (27), Stapp (39)) nennen Verticillium als Erreger einer Gefässkrankheit bei Ulmen. Die Verticilliose wird hier nur erwähnt, weil leicht Verwechselungen mit der Graphium-Krankheit auftreten können. So wurden mir aus Dänemark kranke Ulmenzweige geschickt in der Meinung, es handelte sich um einen Fall von „echtem" Ulmensterben, während es sich herausstellte, dass die Welke-Erscheinungen an dem betreffenden Baume nur durch Verticillium hervorgerufen worden waren.

Anscheinend sind nur junge Bäume für diese Krankheit anfällig. Da auf unsrem Versuchsfelde an jungen Sämlingen Verticillium-Erkrankungen auftraten, war ich genötigt eine Reihe von mit Graphium angestellten Versuchen auszuschalten. Ist ein Baum von Verticillium befallen, so fangen die Blätter von der Spitze her allmählich an zu welken und trocknen. Das Holz zeigt braune Verfärbungen die etwas wässeriger aussehen können und meist gleichmässiger und nicht so stippfleckig sind wie die von Graphium verursachten. Oft ist aber der Unterschied nicht sehr gross. Mikroskopisch sieht man bei Verticillium-Befall in den Gefässen mehrere ziemlich dicke Hyphen, die allerdings manchmal auch nicht auffindbar sind. Thyllen und gummiartige Substanz werden in den kranken Gefässen gebildet, jedoch in geringerer Menge als bei der Graphiumkrankheit, wodurch die Verfärbungen oft weniger intensiv sind.

Die von mir aus Ulmenholz isolierten Verticillium-Stämme gehörten der Klebahnschen Art V. dahliae an.

Ich infizierte einige jungen Bäumchen mit diesem Pilz, indem ich in die Stämme eine Sporensuspension einspritzte (15.6.28). Bei eingen welkten 8 Tage später die obersten Blätter ein wenig, aber nachher erholten sie sich vollständig. Einige Monate später stellte es sich beim Abschneiden heraus, dass nur der gerade infizierte Holzring braun aussah, und zwar in grosser Länge (Foto 9 B sellt ein Zweigstück dar, dass dem Bäumchen mehr als 1 M. über der Infektionsstelle entnommen wurde). Nach dem Zeitpunkt der Infektion hatte sich wieder neues Holz gebildet, das vollkommen gesund war und offenbar für denWassertransport genügt hatte. Da bekanntlich bei der Verticillium-Krankheit die natürliche Infektion vom Boden aus stattfindet, wird es zur Erzielung von äusserlichen Krankheitserscheinungen vielleicht gut sein, eine Sporensuspension in den Boden zu bringen, damit die Infektion zu verschiedenen Zeitpunkten stattfindet und auch das sich später bildende Holz vom Pilz befallen wird.

UEBER EINE VON EINEM STÄBCHENBAKTERIUM VERURSACHTE ULMENHOLZ-VERFÄRBUNG (PSEUDOMONAS LIGNICOLA N. SP.)

Bekanntlich vertritt Brussoff die Ansicht, dass die Ulmenkrankheit von einem Bakterium, das er Micrococcus ulmi nennt, verursacht wird. Durch die Untersuchungen von Stapp (39) ist aber einwandfrei bewiesen worden, dass die Ulmenkrankheit nichts mit irgend einem Bakterium zu tun hat.

Nun ist aber darauf hinzuweisen, dass es bei Ulmen eine Holzverfärbung gibt, die der von Graphium verursachten ziemlich ähnlich sieht und die von einem Stäbchenbakterium hervorgerufen wird. Ich will aber gleich betonen, dass es sich hier um eine vom Ulmensterben ganz unabhängige Erscheinung und nicht um eine richtige Krankheit handelt. Hat man einige Uebung, so kann man eine Graphium- und Bakterien-Verfärbung schon makroskopisch unterscheiden, und zwar an folgenden Merkmalen:

Die Graphiumstreifen sind meistens braun, die Bakterienstreifen sind schwärzlich.

Die Graphiumstreifen sind mehrfach unterbrochen, die Bakterienstreifen nicht; bisweilen spalten sie sich aber in zwei oder mehr getrennte Streifen. Die Graphiumstreifen sind nicht scharf begrenzt, die Verfärbung zerfliesst ins anliegende Holzgewebe und gibt diesem eine leicht rot-violette Farbe. Die Bakterienstreifen dagegen sind schmäler und sehr scharf begrenzt.

Die Bakterienstreifen sind leicht zu verfolgen bis in eine Zweigachsel, einen Blattstiel oder eine Blattnarbe, während man die Graphiumstreifen schwer zu verfolgen vermag, da sie oft unterbrochen sind. Schneidet man von Bakterien befallene junge Zweige ab, so findet man im Querschnitt oft einen oder wenige dunkele Punkte in der Nähe des Markes.

Mikroskopisch findet man in vielen Fällen, dass bei den Bakterienverfärbungen die Gefässe ganz mit Bakterien vollgestopft sind. Dies tritt besonders deutlich an Längsschnitten hervor, wenn man das kranke Gefäss der Länge nach spaltet. Man sieht dann die Bakterien massenhaft austreten. Das den kranken Gefässen angrenzende Gewebe ist nicht so stark angegriffen wie bei einem Graphium-Befall. Es werden weniger Thyllen und auch nicht soviel von der gummiartigen Substanz gebildet, die bekanntlich die von Graphium angegriffenen Gefässe verstopft.

In Holland sind diese Bakterienverfärbungen sehr häufig. Man findet sie in jungen und älteren Zweigen von ganz gesunden, aber auch von bereits durch Graphium erkrankten Bäumen verschiedenen Alters. *Irgend ein Welken oder Vertrocknen der Blätter infolge eines Bakterien-Angriffs, habe ich niemals gesehen.* Daher können wir diese Erscheinung kaum als Krankheit bezeichnen. Sie ist bis jetzt für uns nur von Interesse, weil die Verfärbungen den von Graphium verursachten ähnlich sehen und daher leicht zu Fehlschlüssen bez. der Ursache der Ulmenkrankheit führen können, zumal sie bisweilen an Bäumen auftreten, die schon von Graphium befallen sind

und krank aussehen. Auch in England habe ich diese Bakterien-Krankheit angetroffen. Material aus Schweden und Dänemark, dass mich leider in sehr ausgetrocknetem Zustand erreichte, zeigte ebenfalls diese Verfärbungen.

Nachdem ich eine vorläufige Mitteilung über diesen Bakterien-Angriff (11) veröffentlicht hatte, erschien eine Arbeit von Frl. Dr. Wilson (37), die ihn auch in Nord-England aufgefunden zu haben glaubt, was ja mit meinen Befunden übereinstimmen würde. In seiner Erwiderung auf den Artikel von Stapp hat Brussoff betont, dass er auch Stäbchenbakterien im Holz von kranken Ulmen gefunden hat. Da er aber nur sehr wenig darüber sagt, kann ich nicht entscheiden ob es sich vielleicht um die oben beschriebene Erscheinung handelt. Brussoff erwähnt noch die Möglichkeit, dass bei Micrococcus ein „Saisondimorphismus" auftreten könnte in dem Sinne, dass in den Frühlingsmonaten das Stäbchenbakterium auftritt und sonst nur Micrococcus, dass diese beiden also als Formen eines Organismus aufzufassen sind. Dieser Meinung kann ich mich aber durchaus nicht anschliessen.

Bei folgenden Ulmenarten und -Varietäten habe ich die von Bakterien verursachten Holzverfärbungen angetroffen: U. camp. latifolia, U. camp. monumentalis, U. camp. van Houttei, U. montana, U. mont. Dampieri aurea und bei einer Zelkova-Art.

Das Stäbchen-Bakterium lässt sich leicht isolieren, indem man einen befallenen Zweig sehr sorgfältig desinfiziert, ihn schält, spaltet und die beiden Hälften in der Weise in eine Petri-Schale auf Bierwürze-agar legt, dass die kranken Gefässe den Nährboden direkt berühren. Es ist ratsam möglichst bewegliche Bakterien zur Herstellung von Kulturen zu benutzen. Die Beweglichkeit kan man zuvor mikroskopisch prüfen.

Beschreibung des *Pseudomonas Lignicola,* siehe pag. 50.

Um die Wirkung dieses Bakteriums mit der des Graphiums vergleichen zu können, wurden viele künstliche Impfversuche angestellt. Bespritzungen von Bäumen mit einer Bakterien-Aufschwemmung hatten niemals Erfolg.

Infiziert man dagegen mit einer Spritze die Zweige, so bilden sich von der Infektionsstelle aus Verfärbungen von verschiedener Länge, wie es in einer Tafel (p. 53) dargestellt worden ist. Die erste vertikale Reihe dieser Tafel gibt den Namen der infizierten Ulmenart, die zweite das Impfungs-, die dritte das Kontrolldatum an. Die vierte Reihe gibt die Länge der längsten Verfärbung von der Infektionsstelle nach oben, die fünfte dieselbe nach unten an. Im Februar 1928 hatten derartige Infektionen keinen Erfolg, im April war der Erfolg nur gering.

Obgleich also infolge dieser Infektionen längere Verfärbungen auftraten, zeigte sich niemals irgend ein Vertrocknen des Laubes, nur verfärbten sich die Blätter einiger im Herbst 1927 infizierten Zweige etwas früher als die übrigen. Nach künstlicher Infektion an Wurzeln traten nur ziemlich kurze, schwarze Streifen auf. Es ist noch zu erwähnen, dass ich im Gewächshaus und im Freien (März—April 1928) abgeschnittene Zweige durch Bespritzung mit einer Bakterienaufschwemmung infizierte. Wurden die Blüten vorher abgerissen, so drangen die Bakterien in die frische Wunde ein und verursachten

schwarze Streifen von verschiedener Länge, Wurden die Blüten vorher nicht entfernt, so war keine nennenswerte Streifenbildung nachzuweisen. Die im Gewächshaus vorgenommenen Infektionen hatten einen grösseren Erfolg als die im Freien angestellten.

Im Jahre 1928 fand ich die erste spontane Bakterien-Infektion im neuen Holz desselben Jahres am 26.6. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass die Infektionen in den Sommermonaten stattfinden. Als Eintrittstelle für die Bakterien kommen wohl hauptsächlich die Stomata der Blätter in Betracht. Die Verfärbungen sieht man oft in einer Blattrippe anfangen und sie sind dann durch den Blattstiel in die Zweige zu verfolgen, bis sie aufhören. Trotzdem ist es mir aber nicht gelungen durch Bespritzung von Bäumen mit diesem Bakterium Verfärbungen hervorzurufen.

Auch im Holz anderer Bäume, wie Tilia, Crataegus und Robinia rief dieses Bakterium nach künstlicher Infektion Verfärbungen hervor, ebenfalls ohne die Zweige zum Welken zu bringen.

ZWEIGDUERRE an ULMEN, verursacht von DIAPORTHE sp.

Im Frühling sieht man in Holland oft, dass die obersten Knospen junger Ulmenzweige nicht austreiben oder dass die noch sehr kleinen Blätter sofort anfangen zu welken. Auch später kommt es häufig vor, dass die Blätter eines meist dünnen Zweiges plötzlich welken und dann vertrocknen. Bis im Herbst kann man derartige vertrocknete Zweige finden. Es kann auch vorkommen, dass die kranken Zweige nicht so schnell eingehen, sondern die Blätter erst eine rosarote Farbe annehmen. Man findet diese Dürre fast ausschliesslich an beschatteten Zweigen. Bisher habe ich diese Krankheit nur an U. campestris latifolia feststellen können.

Oudemans erwähnt schon 1885 ein derartiges Zweigsterben (24). Er betrachtet Discella ulmi, später von Saccardo Myxosporium ulmi genannt, als dessen Ursache.

Unter dem vertrockneten Teil eines erkrankten Zweiges findet man oft einen kleinen Krebs. In anderen Fällen zeigt sich an der Grenze des kranken und des gesunden Teiles eine Stelle, die sich meist über ein Internodium ausdehnt, wo die Rinde abgestorben ist. Ende Mai, Anfang Juni findet man darauf die kleinen Myxosporium-Pusteln. Unter dem Mikroskop sieht man, wie das kranke Rindengewebe, bisweilen auch das darunterliegende Holz und Mark von Pilzhyphen durchwachsen ist.

Aus diesen Zweigstücken, wie auch aus den Krebsen, lässt sich ein Pilz isolieren, der in der Kultur bald Pykniden bildet und zur Gattung Phomopsis gehört. In diesen Pykniden kommen zuweilen auch die sogenannten β-sporen vor, die ja bei der Gattung Phomopsis mehrfach beschrieben worden sind. Später zeigen sich in verschiedenen Kulturröhrchen an sterilisierten Stengeln und Zweigen, worauf der Pilz übertragen worden ist, schwarze Ostiola. In der Rinde des Nährsubstrates finden sich dann Perithezien, die, wie es sich herausstellte, zur Gattung Diaporthe gehören. Ich hatte als ich diese Perithezien fand

nicht die Zeit, aus den Ascosporen die Phomopsis-Form zu züchten, aber ich bin eben im Begriff den ganzen Formenkreis dieses Pilzes nachzuprüfen. Auch der Zusammenhang zwischen dieser Diaporthe und dem Myxosporium, das man immer auf den kranken Stellen (aber nicht auf den Krebsen) vorfindet, ist bisher noch nicht geklärt. Es mag sich bei dem Myxosporium um eine Konidienform der Diaporthe handeln, aber bisher ist es mir noch nicht gelungen solche Konidien in meinen Kulturen zu entdecken.

Bekanntlich kommen mehrere Diaporthe-Arten an Ulmenzweigen vor. Die von mir gefundene Art sieht Diaporthe Eres Nitschke sehr ähnlich. Sie unterscheidet sich aber von dieser durch das Vorkommen von kleinen Haken an den beiden Enden der Ascosporen und durch die geringere Länge der β-Sporen. Da sich aber in meinen Kulturen zwei Typen unterscheiden lassen, möchte ich auf eine genaue Bestimmung derselben verzichten, bis ich sie morphologisch durchgearbeitet habe.

Künstliche Infektionsversuche mit diesem Pilz ergaben bisher noch keine eindeutig positiven Resultate. Zwar gelang es mir fast immer den Pilz nach längerer Zeit wieder aus dem infizierten Gewebe zurück zu isolieren, aber ein typisches Zweigsterben ist nicht aufgetreten. Einige Male entstand ein Krebs, anscheinend infolge der Infektion. Allerdings muss ich hier erwähnen, dass ich bisher nur mit Pyknosporen infiziert habe. In einigen Fällen übertrug ich ein Stückchen Rinde mit Myxosporium-Pusteln in gesunde Zweige, ohne jedoch eine Dürre derselben hervorrufen zu können.

SPHAEROPSIS ULMICOLA E. et E., ein Erreger von Krebs an Ulmus americana in Amerika

Von Hubert und Humphrey ist ein Zweigsterben an Ulmus americana beschrieben worden, das nach ihnen von dem krebsbildenden Pilze Sphaeropsis ulmicola verursacht wird. Die Krebse breiten sich über grosse Teile der Zweige aus und bringen sie zum Absterben. Im Jahre 1920 nahm diese Krankheit sehr zu und mehrere Bäume gingen ein. Zur Bekämpfung wird das Ausschneiden der kranken Zweige empfohlen. Infektionsversuche wurden von Hubert und Humphrey nicht angestellt.

Dieses Zweigsterben scheint gefährlicher zu sein als das ziemlich harmlose von Diaporthe hervorgerufene, das ich oben beschrieben habe. Herbarmaterial, das uns Herr Humphrey freundlichst zur Verfügung stellte, überzeugte uns, dass wir an unseren Ulmen diese Krankheit nicht kennen.

NECTRIA CINNABARINA Fr. als Erreger einer Ulmenkrankheit

Nur weil Biourge Nectria cinnabarina als die Ursache des Ulmensterbens betrachtet, sei diese Krankheit hier erwähnt.

Bekanntlich kann N. cinnabarina parasitisch an Ulmen vorkommen, zumal an Gartenvarietäten dieser Bäume. Man sieht zuerst den oberen Teil eines befallenen Baumes welken und vertrocknen, und allmählich schreitet dieses

Welken nach unten fort. Das Holz zeigt nicht einzelne braune Streifen, sondern ist gleichmässig bräunlich verfärbt. Im Sommer sieht man an den kranken Zweigen oder Stämmen die roten Nectria-Sporodochien. Nectria cinnabarina tritt auch oft sekundär an Ulmen auf, und daher kann man diese Sporodochien z.B. auch an von Graphium befallenen Zweigen finden, aber erst wenn diese bereits abgestorben sind. Sind die Zweige eben von Graphium befallen, dann findet man die Sporodochien nicht.

Infektionsversuche mit dieser Nectria habe ich nicht angestellt. Nur möchte ich erwähnen, dass ich diesen Pilz von Zweigen isolierte, die aus Schweden stammten. Man glaubte einen Fall der befürchteten Ulmenkrankheit vor sich zu haben. Obwohl ich mehrfach eingesandtes Material zur Untersuchung bekam, ergab es nie Graphium, nur Nectria. Ein Fall echter Ulmenkrankheit lag also nicht vor.

Ein Fall von Ulmenholz-Verfärbung, verursacht von PYTHIUM INTERMEDIUM de Bary

Am 5.8.27 infizierte ich eine Ulmus campestris latifolia an einer Wurzel mit Bact. lignicola. Am 24.11.27 wurde dieser Baum umgehauen. Da fand ich bis auf ½ M. über der Erdoberfläche im Stamm dicht unter der Rinde sehr dunkle Streifen. Ich konne diese Streifen bis in die Wurzeln verfolgen und es stellte sich heraus, dass sie nicht in der ursprünglich infizierten Wurzel ihren Ursprung hatten, also ganz unabhängig von der künstlichen Infektion entstanden waren. Mikroskopisch waren in dem grünlich-braun verfärbten Holz in einigen Fällen sehr dicke Pilzhyphen zu finden.

Aus diesen Verfärbungen isolierte ich nur Pythium intermedium de Bary.

Um die Pathogenität dieses Pilzes zu prüfen spritzte ich in den Stamm einiger kleiner Bäumchen eine Sporenaufschwemmung ein. Bald sank in der Nähe der Infektionsstelle die Rinde ein und löste sich später vom Holz. Dann entstand eine Umwallung, sodass die erkrankte Stelle wie ein Krebs aussah. Ausserdem bildeten sich im Holz längere schwarze Streifen, die sich nach oben und nach unten viel weiter ausdehnten als die Krebsstelle. Von 6 am 15.6.238 geimpften Bäumchen wurde eins, bei dem sich bereits ein Krebs gebildet hatte, abgeschnitten am 12.7.28. Am 5.11.28 waren 3 Bäumchen über der Krebsstelle abgestorben, bei einem lebte der obere Teil noch und eins hatte die Infektion überstanden ohne zu erkranken.

Das im Boden sehr häufige Pythium intermedium kann also Krankheits-Erscheinungen an Ulmen hervorrufen.

LITERATUURLIJST

1 BARTLETT RESEARCH LABORATORIES. The European Elmdisease. A compilation of the more important available information.
1928, Bull. no. 1.

2 BEWLEY, W. F. Report of the mycologist. Sixth Annual Report.
1920, Turner's Hill, Cheshunt, Herts.

3 BIOURGE, PH. La maladie des ormes.
1927, Bull. de la Soc. centr. forest. de Belgique.

4 BRUSSOFF, A. Die holländische Ulmenkrankheit, eine Bakteriosis.
1925, Centralbl. für Bakt. usw. 2. Abt., 63.

5 ———— Das Ulmensterben.
1926, Umschau 47, 20 Nov.

6 ———— Das Uebergreifen von Micrococcus ulmi auf Ahorne und Linden.
1926, Zeitschr. für Pflanzenkrankh. 36, no. 9-10.

7 ———— Das Uebergreifen von Micrococcus ulmi auf Rotbuchen und kanadische Pappeln.
1926, Zeitschr. für Pflanzenkrankh. 36, no. 11-12.

8 ———— Kritische Bemerkungen zu dem Artikel über das Ulmensterben von Gräfin von Linden und L. Zenneck.
1927, Centralbl. für Bakt. usw. 2 Abt., 71.

9 ———— Ueber das durch Bakterien verursachte Sterben der Ulmen und anderer Laubbäume.
1927, Mitt. deutsch. dendrol. Gesellsch. 38.

10 ———— Ueber die Ursache des Ulmensterbens. Eine Erwiderung auf den Artikel von Dr. C. Stapp.
1928, Mitt. deutsch. dendrol. Gesellsch. 40.

11 BUISMAN, C. J. De Oorzaak van de Iepenziekte.
1928, Tijdschr. Ned. Heidemij., 40, No. 10.

12 COMMISSIE in zake vervanging van den iep, Verslag.
1927, Landsdrukkerij.

13 ERIKSSON, J. Ueber Exosporium ulmi n.sp. als Erreger von Zweigbrand an jungen Ulmenpflanzen.
1912, Mycol. Centralblatt 1.

14 FORESTRY COMMISSION, The Dutch Elm Disease (Graphium ulmi Schwarz).
1928, Leaflet 19.

15 GARMAN, H. The Elms and their diseases.
1899, Kentucky Agr. Exp. St. Bull. 84.

16 HOUTZAGERS, G. De sterfte onder de boomen.
1924, Tijdschr. Ned. Heidemij., 36, no. 9, Sept.

17 HUBERT, E. E. and HUMPHREY, C. J. A canker of the white elm in Wisconsin.
1920, Biennial Report of the Wisc. State Dep. of Agric. for the years 1919-1920. Bull no. 33 Wisc. St. Dep. of Agric.

18 KLEBAHN, H. Eine Verticillium-Krankheit auf Dahlien.
1913, Mycol. Centralbl. 3.
19 Gräfin VON LINDEN und LYDIA ZENNECK, Untersuchungen über das Ulmensterben in den Beständen der städtischen Gartenverwaltung der Stadt Bonn und anderer Orte.
1927, Centralbl. für Bakt. usw. 2. Abt., 69.
20 ———— Erwiderung auf die kritischen Bemerkungen von Brussoff zum Ulmensterben.
1927, Centralbl. für Bakt. usw. 2. Abt., 71.
21 VAN DER MEER, J. Verticilliumwilt of herbaceous and woody plants.
1924, Mededeelingen Landbouwhoogeschool Wageningen, 28.
22 ———— Verticilliumwilt of maple and elm seedlings in Holland.
1926, Phytopathology 16.
23 NITSCHKE, TH. Pyrenomycetes germanici.
1870, Band 1, Lief. 2, Breslau.
24 OUDEMANS, C. A. J. A. Aanwinsten voor de Flora Mycologica van Nederland, 9 en 10.
1885, Nederl. Kruidk. Archief, Serie 2, deel 4, stuk 3.
25 PAPE, H. Das Ulmensterben in Deutschland.
1924, Mitt. deutsch. dendrol. Gesellsch. 34.
26 REINKE, J. und BERTHOLD, G. Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze.
1879.
27 SCHWARZ, M. B. Das Zweigsterben der Ulmen, Trauerweiden und Pfirsichbäume.
1922, Meded. Phyt. Lab. Willie Commelin Scholten, 5.
28 SPIERENBURG, DINA Een onbekende ziekte in de iepen, 1.
1921, Versl. en Meded. van den Plantenz. Dienst, Wageningen, 18.
29 ———— Een onbekende ziekte in de iepen, 2.
1922, Versl. en Meded. van den Plantenz. Dienst, Wageningen, 24.
30 SMITS VAN BURGST, C. A. L., Over immuniteit bij planten en de boomensterfte,1.
1925, Tijdschr. Ned. Heidemij., 37, no. 5, Mei.
31 ———— Over immuniteit bij planten en de boomensterfte, 2.
1925, Tijdschr. Ned. Heidemij., 37, no. 7, Juli.
32 STAPP, C., Ueber die Ursache des Ulmensterbens.
1928, Mitt. deutsch. dendrol. Gesellsch. 40.
33 VALCKENIER SURINGAR, J., Eine Ulmenkrankheit in Holland.
1922, Mitt. deutsch. dendrol. Gesellsch. 32.
34 ———— Referaat over Onderzoekingen betreffende de Iepenziekte.
1927, Jaarb. Ned. Dendrol. Vereen.
35 WESTERDIJK, JOH., Is de Iepenziekte een Infectieziekte?
1928, Tijdschr. Ned. Heidemij., 40, No. 10.
36 WILSON, MALCOLM and WILSON, MARY J. F., The occurrence of the Dutch Elm Disease in England.
1928, The Gardeners' Chronicle, Vol. 73.
37 WILSON, MARY J. F., Ueber das Ulmensterben und seinen Erreger.
1929, Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten, 39, Heft 1.
38 WOLLENWEBER, H. W., Das Ulmensterben und sein Erreger, Graphium ulmi Schwarz.
1927, Nachrichtenbl. f. d. deutsch. Pflanzenschutzdienst, 7.
39 ———— und STAPP, C. Untersuchungen über die als Ulmensterben bekannte Baumkrankheit.
1928, Arb. aus der Biol. Reichsanst. für Land- und Forstwirtsch., 16, Heft 2.